

# **Photochemische Linkerstrukturen zur laserinduzierten Wirkstofffreisetzung aus polymeren Intraokularlinsen**

## **Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

dem

Fachbereich Chemie

der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

**Julia Liese**

aus

Überlingen am Bodensee

Marburg/Lahn 2011

Vom Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg  
als Dissertation am 24.03.2011 angenommen.

Erstgutachter: Prof.Dr. N. Hampp

Zweitgutachter: Prof.Dr. M. Motzkus

Tag der mündlichen Prüfung am: 13.05.2011



## **Einzelne Teile dieser Arbeit wurden vorab veröffentlicht:**

**2008**

„Novel Polymers for Intraocular Lenses enabling Photo-Triggered Drug Delivery“

H. Kim, J. Träger, D. Kehrlöser, J. Liese and N. Hampp, Biomedical Optics, OSA Technical Digest, Optical Society of America

**2010**

„1,1-Dimethylnaphtalenon-dimers as photocleavable linkers with improved two-photon-absorption efficiency and hydrolytic stability“

J. Liese and N. Hampp, Journal of Photochemistry and Photobiology A, 209

**2011**

„Synthesis and Photocleavage of a new polymerizable [2+2] hetero dimer for phototriggered drug delivery“

J. Liese and N. Hampp, Journal of Photochemistry and Photobiology A, accepted

**2011**

„Thermal [2+2]-Cycloreversion of a Cyclobutane Moiety via a Biradical Reaction“

J. Liese and N. Hampp, Journal of Physical Chemistry A, accepted

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>2</b>
1.1	Kurzfassung . . . . .	2
1.2	Abstract . . . . .	5
<b>2</b>	<b>Grundlagen</b>	<b>8</b>
2.1	Grundlagen . . . . .	8
2.1.1	Auge und Katarakt . . . . .	10
2.1.2	Der Nachstar . . . . .	14
2.1.3	Pericyclische Reaktionen . . . . .	17
2.1.4	Zwei-Photonen-Absorption . . . . .	20
2.1.5	Infinity Laser-System . . . . .	26
2.1.6	Wirkstofffreisetzung aus Polymermaterialien . . . . .	29
2.1.7	5-Fluoruracil . . . . .	32
<b>3</b>	<b>Zielsetzung</b>	<b>35</b>
3.1	Zielsetzung . . . . .	35
<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>38</b>
4.1	Monomere für die Wirkstoffimmobilisierung . . . . .	38
4.2	Entwicklung der Synthese zu Kreuzdimeren . . . . .	45
4.2.1	Eigenschaften der Naphtalenon-Kreuzdimere . . . . .	47
4.3	Wirkstoffbeladenes Polymer . . . . .	54
4.3.1	Analytik der Freisetzung aus Polymermaterial . . . . .	55

4.4	Thermische [2+2]-Cycloreversion . . . . .	63
4.4.1	Konfiguration der Dimere und Identifikation der Produkte . . .	64
4.4.2	Bestimmung der Aktivierungsenergie . . . . .	66
4.4.3	Radikalfängerreaktion und ESR-Experimente . . . . .	69
4.4.4	Aufklärung des Reaktionsmechanismus . . . . .	73
4.5	Thermisch stabile Kreuzdimere . . . . .	77
4.5.1	Temperaturtest . . . . .	81
4.6	Strukturen der Dimerkandidaten . . . . .	83
4.7	Synthese weiterer funktionalisierter Polymermaterialien . . . . .	90
4.7.1	Polymerisation . . . . .	90
4.7.2	Bestimmung der photochemischen Eigenschaften . . . . .	94
4.7.3	Sterilisation und Wirkstofffreisetzung . . . . .	98
4.8	Zusammenfassung . . . . .	104
<b>5</b>	<b>Materialien und Methoden</b>	<b>107</b>
5.1	Materialien und Methoden . . . . .	107
5.1.1	Chemikalien . . . . .	107
5.1.2	Analytik . . . . .	107
5.1.3	Aufreinigungsmethoden . . . . .	110
5.1.4	Lichtquellen für Photoreaktionen . . . . .	110
5.1.5	Synthesen . . . . .	113
5.1.6	Polymerisation . . . . .	158
<b>6</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>163</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	<b>180</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Kurzfassung

Der Katarakt oder auch Grauer Star genannt, ist eine Erkrankung des Auges, in deren Verlauf sich durch verschiedene Faktoren die ursprünglich klare Augenlinse trübt. Schätzungen gehen davon aus, dass etwa 18 Millionen Menschen ihr Sehvermögen durch Katarakt verloren haben und jährlich etwa 2 Millionen Erkrankungen hinzukommen. Das Hauptsymptom des Katarakts ist ein langsamer und schmerzloser Sehverlust. Die Sehschärfe nimmt ab, die Blendempfindlichkeit nimmt hingegen zu und die Umwelt wird zunehmend als verschwommen wahrgenommen. In fortgeschrittenem Stadium ist der Katarakt als graue oder bräunliche Verfärbung im Auge zu erkennen und der Patient erblindet.

Obwohl die genauen Auslöser noch immer Gegenstand der Forschung sind und der Katarakt auch bei Kindern auftreten kann, gilt die Erkrankung mehrheitlich als altersbedingter Effekt. Die einzige Behandlungsmöglichkeit stellt die operative Entfernung der natürlichen Linse und ihr Ersatz durch eine künstliche polymere Intraokularlinse (IOL) dar.

Eine in etwa 50 % der Fälle auftretende Komplikation dieser Methode ist der Nachstar (sekundärer Katarakt)<sup>[1,2]</sup>. Dabei migrieren im Auge befindliche Epithelzellen auf die IOL und den vorderen und hinteren Kapselsack, wodurch die Sicht wiederum stark beeinträchtigt wird. Neben der Möglichkeit den Nachstar durch eine Laserkapsulotomie, der nicht ungefährlichen thermischen Zerstörung der hinteren Wand des

Kapselsacks, zu behandeln, wird derzeit ein neuer Ansatz auf der Basis von photoinduzierter Wirkstofffreisetzung aus dem Linsenimplantat selbst untersucht.

Dabei wird ein therapeutischer Wirkstoff gegen die Epithelzellen an der Polymerlinse über einen photochemischen Linker immobilisiert, der dann bei Bedarf durch eine gezielte photochemische Spaltung freigesetzt wird. Da die Linkerspaltung auf einer Cycloreversion eines Cyclobutanringes beruht, zu deren Spaltung über Ein-Photon-Absorption (SPA) Licht der Wellenlänge  $< 300$  nm benötigt wird und die Hornhaut für diese Wellenlänge undurchlässig ist, muss die benötigte Energie über einen Zweiphotonenprozess (TPA) zugeführt werden. Dies hat den Vorteil, dass die Wirkstofffreisetzung durch die zwei einzustrahlenden Photonen räumlich genau kontrollierbar ist.

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die synthetische Entwicklung und Optimierung eines neuen Linkersystems zur Immobilisierung von 5FU, einem bereits im Auge erprobten Zytostatikum, sowie der Effektivität der photochemischen Spaltung der synthetisierten Linker-Wirkstoff-Konjugate und der Charakterisierung der Freisetzung des Wirkstoffes aus dem fertigen Polymermaterial. Es wurden neben dem bereits bekannten Coumarin sechs weitere Monomere als Linker synthetisiert und getestet.

Coumarin stellt das bereits bekannte System für die Wirkstoffimmobilisierung dar, brachte jedoch diverse Probleme für die Anwendung mit sich. Der Lactonring ist im Dimer stark hydrolyseempfindlich, weshalb nicht sichergestellt werden kann, dass das Coumarin im Hydrogel in wässriger Umgebung stabil ist. Als alternative Linker wurden 1,1-Dimethylnaphtalenon, 1,2-Dihydronaphtalin, Stilben, Zimtsäure, 1,4-Naphtochinon und Chalkon evaluiert. Dabei zeigte sich, dass insbesondere 1,1-Dimethylnaphtalenon, aber auch Coumarin, Zimtsäure und 1,2-Dihydronaphtalin gegenüber erhöhten Temperaturen instabil waren. Thermische Stabilität ist jedoch für die Sterilisation durch Autoklavieren, der einzigen Sterilisationsmethode für hydrophile Polymere, unbedingt erforderlich.

Nach den Woodward-Hoffmann-Regeln ist in diesem Falle die thermische [2+2]-Cycloreversion verboten. Daher wurde die Reaktion am 1,1-Dimethylnaphtalenon-H5FU-Dimer näher untersucht und der in diesem Fall nicht-konzertierte, sondern radikalische Mechanismus mittels Radikalfängerreaktionen und ESR aufgeklärt und erstmals bewiesen.

Diese Entdeckung ist für die Anwendung als Linkersystem zur Immobilisierung von 5FU recht ungünstig. Aus diesem Grund wurden weitere Polymere mit den temperaturstabilen Linkern 1,4-Naphtochinon und Chalkon synthetisiert und analysiert. Diese Polymermaterialien zeigten sich im Autoklavierungstest stabil.

Des weiteren wurde in dieser Arbeit eine generelle Vorschrift für die Synthese derartiger wirkstoffbeladener Polymere entwickelt, die mit jeweils auf die Monomere zugeschnittenen kleinen Modifikationen erfolgreich für Coumarin, 1,1-Dimethylnaphtalenon, 1,4-Naphtochinon und Chalkon durchgeführt wurde. Letztere drei Monomere wurden genauer auf ihre photochemischen Eigenschaften, die 5FU-Freisetzung aus dem Polymer und das Diffusionsverhalten aus dem Hydrogel untersucht. Die Freisetzung von 5FU konnte für alle drei Polymere erfolgreich nachgewiesen werden. Aufgrund der Anforderung der Autoklavierbarkeit der Polymermaterialien erwiesen sich 1,4-Naphtochinon und Chalkon als die geeigneten Linker für 5FU. Zusätzlich besitzen beide im Vergleich zu früher untersuchten Linkermolekülen einen hohen Zwei-Photonen-Querschnitt, was vorteilhaft für die Laserfreisetzung ist, da hier geringere Energien bzw. kürze Bestrahlungszeiten im Auge angewendet werden können.

## 1.2 Abstract

Cataract is a disease caused by a dysfunction of the metabolism in the eye which leads to an opacification of the natural ophthalmic lens. About 18 million people worldwide have already lost their vision by cataract and 2 millions new incidences are estimated per year. The course of the disease leads to a painless loss of sight, decreasing of the acuity and higher sensitivities towards glares. In the progression, a gray or brown discolouration of the lens develops and the patient may lose his vision completely. The reasons for the opacification vary and they are still under extensive research, but most cases of cataract are related to the aging process. The sole treatment of cataract is replacing the opacified natural lens with a polymer intraocular lens (IOL) via surgery.

A typical complication of this treatment is secondary cataract or posterior capsule opacification (PCO), occurring in almost 50 % of all cases within 5 years. Retained epithelial cells migrate onto the IOL and the anterior and posterior capsule bag and cause a progressive deterioration of the visual acuity. The state-of-the-art treatment for PCO is Nd:YAG laser capsulotomy where the posterior capsule bag is destroyed to improve the transparency of the field of vision. However, this treatment has several drawbacks. The high energy beams may damage the IOL, the intraocular pressure is increased, which leads to glaucoma, and the retina can be damaged. Therefore another approach to treat PCO is investigated at present, which targets the epithelial cells via a photo-induced drug delivery system in the IOL.

A cytotoxic drug is covalently bound to the polymer backbone of the IOL, which may be released via photochemical excitation when required. The linker cleavage occurs via a cyclobutane moiety which needs excitation at wavelengths below 300 nm, which are absorbed by the cornea. Therefore the required energy must be applied via a two-photon-processes (TPA) at wavelengths of 512 nm. This process guarantees a high selectivity for the linker and excellent spatial control of the drug release.

This thesis describes the synthetical development of a new drug-linker-conjugate for the immobilisation of 5-fluorouracil as cytotoxic drug and the effectivities of photochemical cleavage and drug releases from functionalized polymer materials. 5-Fluorouracil (5FU) has already been proven as a suitable drug for ophthalmic applications. Coumarin and another six other potential linker molecules were examined for the application as linker for 5FU.

Coumarin was the first molecule tested for this application, but showed several disadvantages. The lactone ring in the dimer is very vulnerable towards hydrolysis, which cannot be excluded in aqueous surroundings in the eye and leads to undesired reactions upon irradiation. Alternatively, several other molecules were examined, which were 1,1-dimethylnaphthalene, 1,2-dihydronaphthalene, stilbene, cinnamic acid, 1,4-naphthoquinone and chalcone. In the course of the synthesis coumarin-, cinnamic acid-, 1,2-dihydronaphthalene- and especially 1,1-dimethylnaphthalene-5FU dimers showed an unexpected [2+2]-cycloreversion reaction at higher temperatures. These temperatures are required for autoclaving the polymer material before insertion into the eye, the sole sterilisation method for hydrogels.

According to Woodward-Hoffmann a thermal [2+2]-cycloreversion of the 5FU-linker-conjugate is not allowed under these conditions. This interesting finding was thoroughly investigated and the reaction successfully elucidated via radical scavenging reactions and ESR measurements. The reaction does not occur via a concerted mechanism, but via radicals, which may undergo several different following reaction pathways. Although these kind of reactions have already been noticed in the past, the radical mechanism was experimentally proven for the first time in this work.

However, this thermal instability of the dimers is unfavourable for the application as a drug delivery device. Therefore, two molecules from the remaining three stable dimers were chosen for further examination. New polymers were synthesized with 1,4-naphthoquinone and chalcone as linkers for 5FU and proved the desired stability against higher temperatures and drug release via TPA processes.



A general procedure for the synthesis of 5FU loaded polymers was developed in this thesis and successfully carried out with small modifications for coumarin, 1,1-dimethylnaphtalenone, 1,4-naphtoquinone and chalcone. The last three were further examined regarding photochemical properties, drug release and diffusion rates from the polymer material.

Drug release was successfully carried out for all three of them, but only 1,4-naphtoquinone and chalcone have the desired thermal stability, which makes them suitable linkers for 5FU. Both have efficient TPA-cross sections which is advantageous for the application due to the possibility of using lower energies and/or shorter irradiation times in the eye.

## 2 Grundlagen

### 2.1 Grundlagen

Katarakt, oder auch umgangssprachlich Grauer Star genannt, ist die häufigste Ursache für Erblindung weltweit. Die WHO schätzt, dass insgesamt etwa 18 Millionen Menschen an Katarakt erblindet sind und jährlich etwa 2 Millionen Erkrankungen hinzukommen<sup>[3]</sup>. In den Industrieländern kann solch eine Erblindung durch eine Operation behoben werden, während in den Entwicklungsländern, aufgrund fehlender finanzieller Mittel, diese Möglichkeit weitestgehend nicht besteht. Das Auge des Menschen nimmt etwa ein Drittel der gesamten Informationen über unsere Umwelt wahr und leitet sie zur Informationsverarbeitung ins Gehirn<sup>[4]</sup>. Erblindung führt für den auf visuelle Wahrnehmung ausgerichteten Menschen zu großen Einschränkungen im alltäglichen Leben und seiner Lebensqualität.

Beim Grauen Star trübt sich die Linse im Auge und streut mit zunehmender Dichte des Katarakts das Licht immer mehr, so dass die Blendempfindlichkeit zunimmt und Kontraste und Details immer schlechter wahrgenommen werden können. Die einzige Behandlungsmöglichkeit stellt die operative Entfernung der Linse dar.

Der Graue Star ist menschheitsgeschichtlich gesehen bereits eine altbekannte Erkrankung. Bereits 1750 v.Chr. wurde er erstmals schriftlich im Codex Hammurapi erwähnt, der als eine der ältesten Gesetzessammlungen die Vergütung einer Staroperation bzw. die Bestrafung bei anschließendem Verlust des Auges festsetzte. Die älteste bekannte und bis ins 18. Jh. praktizierte Behandlungsmethode war das sogenannte

Starstechen. Dabei wurde mit einem spitzen Instrument seitlich ins Auge gestochen, die getrübbte Linse vom Ziliarmuskel getrennt und nach unten hin aus dem Sichtfeld geschoben. Damit war der Weg des Lichtes auf die Netzhaut zwar wieder frei, allerdings fehlte die Brechkraft der Linse, sodass die Patienten nur wieder sehr verschwommen sehen konnten.



Abbildung 2.1: (a) Codex Hammurapi (b) Starstechen 1583<sup>[5]</sup> (c) Originalskizze und erstes Linsendesign von Harold Ripley 1947<sup>[6]</sup>

Diese Prozedur wurde bereits 29 v.Chr. von Aulus Cornelius Celsus in seinem Werk „De Medicina“ abgehandelt. Später wurden als Ausgleich für die entfernte Linse die sogenannten Starbrillen eingesetzt, die allerdings zu starker Vergrößerungen und Einschränkung des Sichtfeldes führten. Der Name Katarakt kommt vom Lateinischen *cataracta*, „Wasserfall“, aus der Annahme heraus, die Linse würde von herabfließendem Gehirnwasser getrübt<sup>[7]</sup>.

1705 wurde erstmals vom französischen Chirurgen Pierre Brisseau Katarakt als Trübung der Augenlinse diagnostiziert<sup>[8]</sup>. Sein Landsmann Jaques Daviel beschrieb 1753 erstmals die Entfernung der Linse anstelle des Starstechens<sup>[9]</sup> als Behandlungsmethode und legte damit den Grundstein der heutigen Behandlung des Grauen Stars. Ein wei-

terer großer Fortschritt wurde durch die Entdeckung von Kokain als Lokalanästhetikum für Operationen am Auge durch Karl Koller<sup>[10]</sup> und die Entdeckung von Polymethylmethacrylat als Linsenersatzmaterial von Harold Ridley 1947<sup>[11–16]</sup> erzielt. Er entdeckte durch Zufall, dass aus PMMA gefertigte Materialien wie Plexiglassplitter im Auge ohne Entzündungs- oder sonstige Abstoßungsreaktionen toleriert werden.

Heute werden solche sogenannten Intraokularlinsen (IOL) aus Silikonen oder faltbaren Acrylaten hergestellt, da sie durch ihre Flexibilität schonender eingesetzt werden können. Die Kataraktoperation ist mit etwa einer halben Million Eingriffen pro Jahr allein in Deutschland der am häufigsten durchgeführte chirurgische Eingriff<sup>[4]</sup> und mit der zunehmenden Alterung der Gesellschaft werden sich diese Zahlen in den nächsten Jahren noch erhöhen.

### 2.1.1 Auge und Katarakt

Die Linse des menschlichen Auges liegt zwischen den Augenkammern und dem Glaskörper. Ihre Aufgabe ist es, einfallendes Licht auf die Netzhaut zu fokussieren. Zonulafasern, die der Linsenkapsel entspringen, verbinden sie mit dem ringförmigen Ziliarmuskel, der durch Kontraktion und Entspannung die Akkomodation steuert. Die Linse ist zwar an der Bündelung der Lichtstrahlen beteiligt, steuert zur gesamten Brechkraft des Auges jedoch nur etwa ein Drittel bei, den größeren Anteil liefert hier die Hornhaut. Ab etwa dem 45. Lebensjahr nimmt die Elastizität der Linse ab und ist ab dem 60. Lebensjahr praktisch verloren<sup>[4]</sup>.

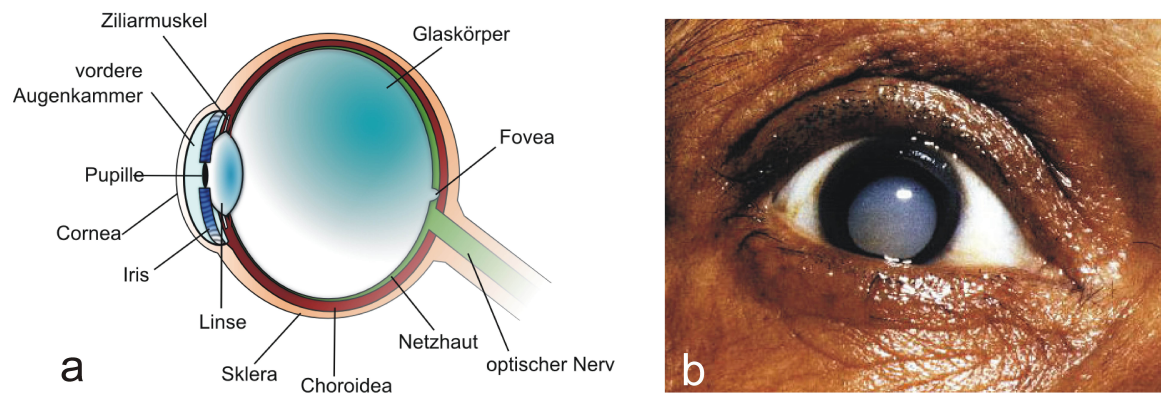


Abbildung 2.2: (a) Schematischer Aufbau des Auges (b) Grauer Star

Die hochspezialisierten Zellen der Augenlinse liegen in sehr regelmäßiger Anordnung vor und bilden quasi eine Art biologischen Kristall. Da für die Lichtdurchlässigkeit nahezu alle Organellen eliminiert wurden, muss die Energieversorgung der Linsenzellen anders als für normale Körperzellen geregelt werden. Dies geschieht durch die sogenannten Kristalline, spezialisierte Proteine, die hochgeordnet in Lösung in der Zelle vorliegen. Mit Nährstoffen versorgt werden die Zellen durch das Kammerwasser, ein Ultrafiltrat des Blutes, das keine Zellen enthält und damit auch nicht gefärbt ist. Es versorgt Linse und Hornhaut und entsorgt Abfallprodukte<sup>[4]</sup>. Wird dieses empfindliche Gleichgewicht gestört, etwa durch Fehler in der Anordnung der Zellen, klumpende Kristalline oder nicht abtransportierte Stoffwechselprodukte, kommt es zum Katarakt.

Das Hauptsymptom des Katarakts ist ein langsamer und schmerzloser Sehverlust. Die Sehschärfe nimmt ab und die Umwelt wird zunehmend als verschwommen wahrgenommen. Durch die Linsentrübung tritt eine diffuse Brechung auf, es kommt zu einer erhöhten Blendempfindlichkeit und das Sehvermögen reduziert sich stark bei kontrastarmer Umgebung. Bei fortgeschrittenem Katarakt ist dieser als weißliche oder bräunliche Verfärbung hinter der Pupille zu erkennen und der Patient erblindet.

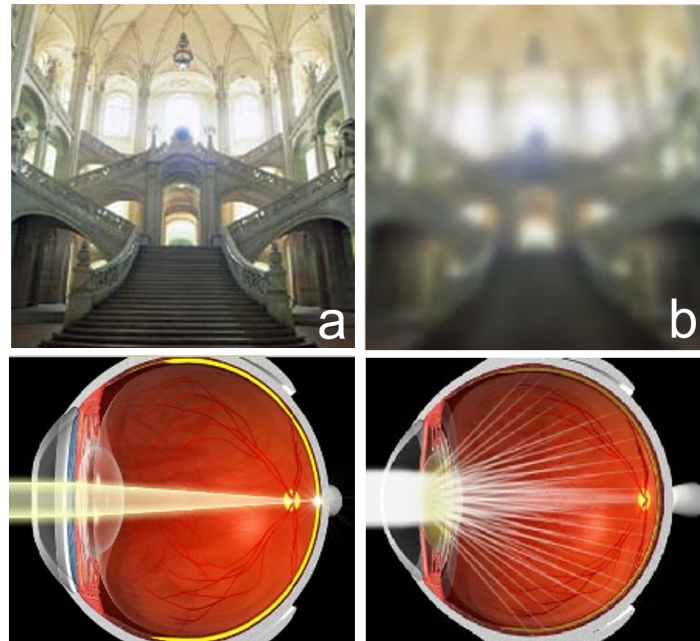


Abbildung 2.3: (a) Sicht und Fokussierung bei gesundem Auge (b) und an Katarakt erkranktem Auge<sup>[17]</sup>

Die einzige Behandlungsmöglichkeit des Katarakts ist die operative Entfernung der getrübbten Linse. Sie wird durch eine künstliche Linse aus Polymermaterial ersetzt, so dass uneingeschränktes Sehen wieder möglich ist.

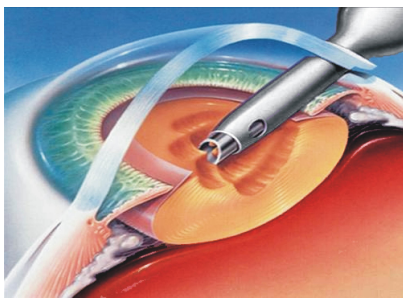
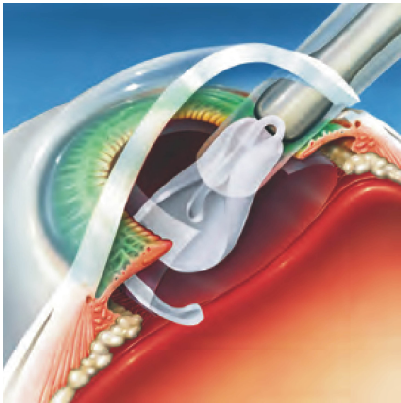
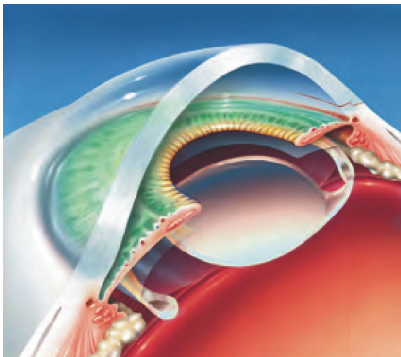


Abbildung 2.4: Phakoemulsifikation<sup>[18]</sup>

Zunächst wird durch einen etwa 3 mm großen Schnitt die vordere Linsenkapsel entfernt. Die eingetrübte natürliche Linse wird über Phakoemulsifikation mit einem Ultraschallstift zerkleinert und abgesaugt, während gleichzeitig sterile Flüssigkeit ins Auge eingeleitet wird.

Abbildung 2.5: Einsetzen der IOL<sup>[18]</sup>

Anschließend wird die künstliche IOL in die Linsenkapsel eingesetzt. Die modernen IOL-Materialien sind flexibel und faltbar, sodass sie auch durch die kleine Öffnung passen. Sie entfalten sich anschließend an Ort und Stelle wieder. Die kleine Operationswunde hat den Vorteil, dass sie nicht vernäht werden muss und sich von selbst wieder schließt.

Abbildung 2.6: Lage der IOL<sup>[18]</sup>

Nachdem sich die künstliche Linse wieder entfaltet hat, wird sie von ihren Haptiken und dem Ziliarmuskel in der Linsenkapsel an Ort und Stelle gehalten. Sie nimmt dann exakt die Position ein, die vorher die natürliche Augenlinse inne hatte.

Es ist auch möglich speziell modifizierte IOLs zu verwenden, um Sehschwächen auszugleichen und, wie in dieser Arbeit untersucht wird, über Wirkstoffdepots für mögliche Nachfolgeerkrankungen vorzusorgen.



### 2.1.2 Der Nachstar

Bei der Operation des Grauen Stars verbleiben nach der Zerstörung und Absaugung der natürlichen Linse immer noch einige undifferenzierte Linsenstammzellen im Kapselsack. Diese Epithelzellen können sich nach der Operation wieder vermehren und auf der künstlichen IOL migrieren, wodurch sie das Sehvermögen wieder beeinträchtigen. In 10-50 % der Fälle kommt es daher innerhalb der ersten 3-5 Jahre nach der Kataraktoperation zum sogenannten Nachstar, *cataracta secundaria*<sup>[1,2]</sup>. Die Zahlen variieren je nach verwendetem Material der Intraokularlinsen. Für Linsen aus Polyacryl liegt die Gesamtkapsulotomierate innerhalb einer Gesamtbeobachtungszeit von 3 Jahren bei 10 %, für Silikonlinsen bei 40 % und für PMMA Linsen bei 56 %<sup>[1]</sup>. Abhängig von vielen Bedingungen tritt folglich bei allen Materialien der Nachstar auf<sup>[19]</sup>.

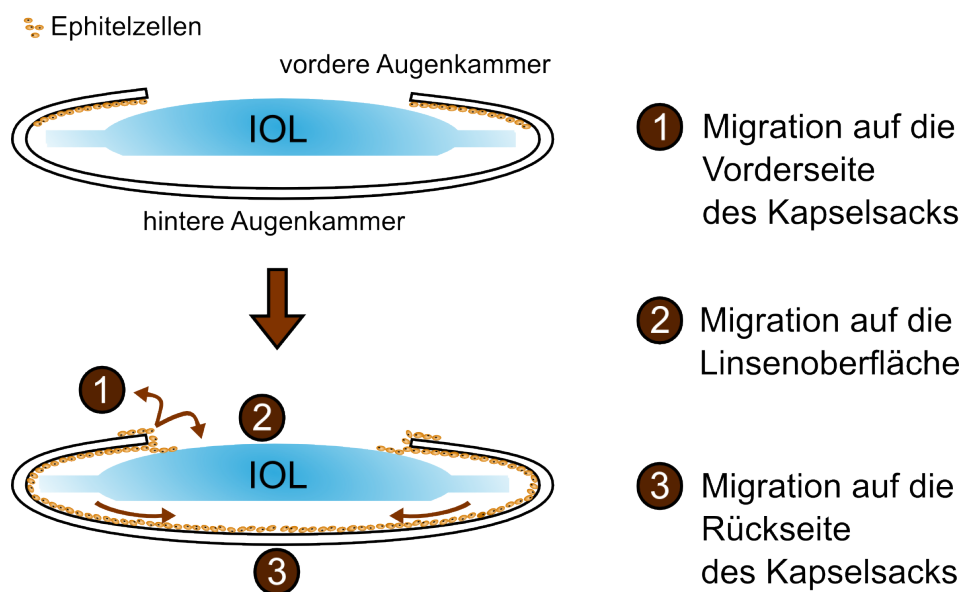


Abbildung 2.7: Migration der Epithelzellen auf die künstliche Linse<sup>[20]</sup>

Die aktuelle Behandlungsmöglichkeit sieht eine sogenannte Laserkapsulotomie vor, bei der die Rückseite des Kapselsacks mittels Laserbestrahlung thermisch zerstört wird. Dort können dann keine Epithelzellen mehr wuchern und die Sicht verbessert sich wieder. Allerdings ist dieses Verfahren nicht ungefährlich, da sowohl die



Netzhaut als auch die Polymerlinse beschädigt werden kann<sup>[21,22]</sup> oder Makulaöde-me auftreten können<sup>[23,24]</sup>.

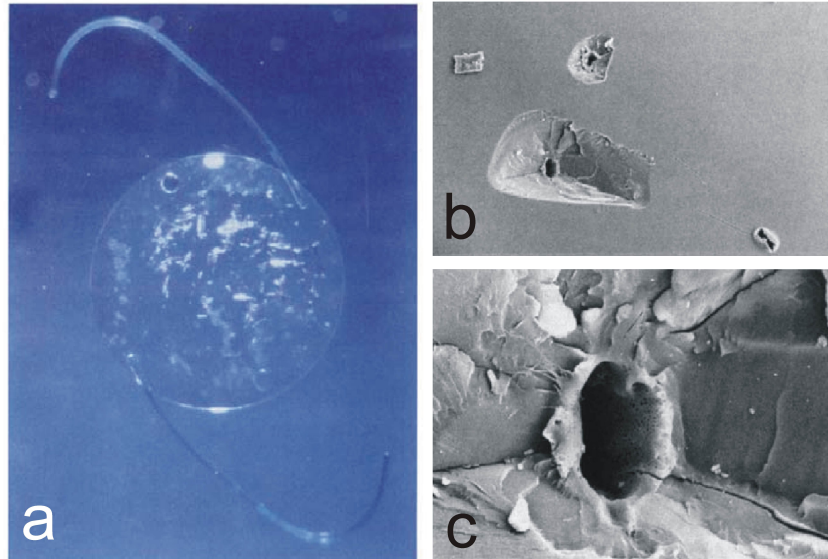


Abbildung 2.8: Beschädigte IOLs durch Laserkapsulotomie<sup>[2]</sup>(a) Polypropylen-Linse mit Beschädigungen an der Rückseite (b) SEM Aufnahme der Rückseite, 90fach vergrößert (c) dieselbe Linse 600fach vergrößert

In den letzten Jahren wurden verschiedenste Ansätze zur Nachstarbehandlung publiziert, die Strategien reichen von der Veränderung des Linsendesigns<sup>[25–27]</sup>, über IOL-Materialveränderung zur Beeinflussung der Zelladhäsion<sup>[28–31]</sup> bis zur Bearbeitung der IOL-Oberfläche<sup>[32–34]</sup>. Ein weiterer Ansatz den Nachstar zu behandeln ist die Zellmigration mittels Medikamenten zu unterbinden. Das Medikament wird dabei an der IOL immobilisiert und erst bei Auftreten des Nachstars freigesetzt. Dazu ist ein Molekülbaustein notwendig, der den Wirkstoff an die Polymerlinse bindet und bei Bedarf photochemisch freisetzen kann.

Dieses Linkersystem muss besondere Eigenschaften vorweisen: Es muss den Wirkstoff derart kovalent binden, so dass er nicht schon bei Tageslicht spaltet, aber dennoch durch gezielte Lichteinwirkung freigesetzt werden kann. Dabei muss beachtet werden, dass die Hornhaut nur für Strahlung zwischen 360 nm und etwa 800 nm durchlässig ist. Des Weiteren dürfen die physikalischen und optischen Eigenschaften der Linse nicht zu stark beeinflusst werden, um keine Einbußen in der Handhabung und später in der optischen Wahrnehmung zu erhalten.

Mit der ersten Entwicklung eines solchen Systems befasste sich bereits S. Kreiling<sup>[35]</sup>, dessen Arbeit von S. Härtner<sup>[36]</sup> fortgeführt wurde. Diese Systeme basierten zunächst auf der photoinduzierten [2+2]-Cycloaddition und -reversion von Coumarinen<sup>[37–40]</sup>.

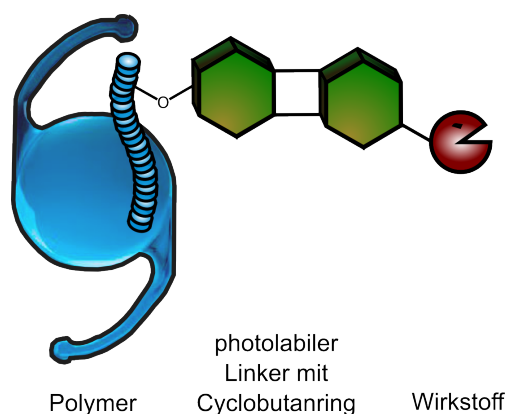


Abbildung 2.9: Prinzip des an das Polymer gebundenen Wirkstoff-Linker-Konjugats

Coumarin und seine Derivate sind dafür bekannt, über die lichtinduzierte Reaktion zweier  $\pi$ -Bindungen unter Ringbildung zu 2  $\sigma$ -Bindungen Dimere zu bilden. Diese Reaktion ist wellenlängenabhängig reversibel, bei Bestrahlen der Monomere mit Licht einer Wellenlänge größer 300 nm bilden sich Dimere über die [2+2]-Cycloaddition, bei Bestrahlung der Dimere mit Licht einer Wellenlänge kleiner 300 nm entstehen wieder Monomere über eine [2+2]-Cycloreversion.

Die [2+2] Cycloaddition zweier Coumarine wurde bereits 1922 von Ciamician und Silber entdeckt <sup>[41]</sup>. Sie setzten eine Coumarinlösung zwei Jahre dem Sonnenlicht aus und erhielten ein ihnen unbekanntes Produkt mit einem deutlich höheren Schmelzpunkt, als das Edukt. Die genaue Identifizierung des Produktes als Coumarindimer konnte jedoch erst 1966 durch Schenk mittels <sup>1</sup>H-NMR erfolgen<sup>[42]</sup>.

Reaktionen dieses Typs nennt man auch pericyclische Reaktionen, sie laufen in der Regel konzertiert ab, d.h. ohne isolierbare Übergangszustände.

### 2.1.3 Pericyclische Reaktionen

Bei pericyclischen Reaktionen werden die Bindungsverhältnisse durch eine konzertierte Verschiebung der Elektronen verändert. Das bekannteste Beispiel hierfür ist die Diels-Alder-Reaktion, eine [4+2]-Cycloaddition.

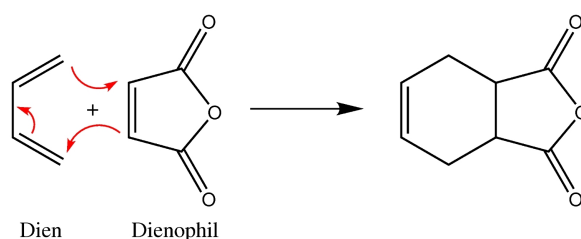


Abbildung 2.10: Die Diels-Alder-Cycloaddition

Die Diels-Alder Reaktion findet hier zwischen einem Dienophil und einem Dien unter Wärmezufuhr statt. Pericyclische Reaktionen werden durch Symmetrie und energetische Lage der Grenzorbitale der Edukte gesteuert. Dabei reagiert stets das energetisch höchste besetzte Molekülorbital HOMO (highest occupied molecular orbital) mit dem energetisch niedrigsten unbesetzten Orbital LUMO (lowest unoccupied molecular orbital). Für die Entwicklung der sogenannten Woodward-Hoffmann Regeln zur Erklärung von pericyclischen Reaktionen mittels Molekülorbitalen erhielten K. Fukui und R. Hoffmann 1981 den Nobelpreis<sup>[43,44]</sup>.

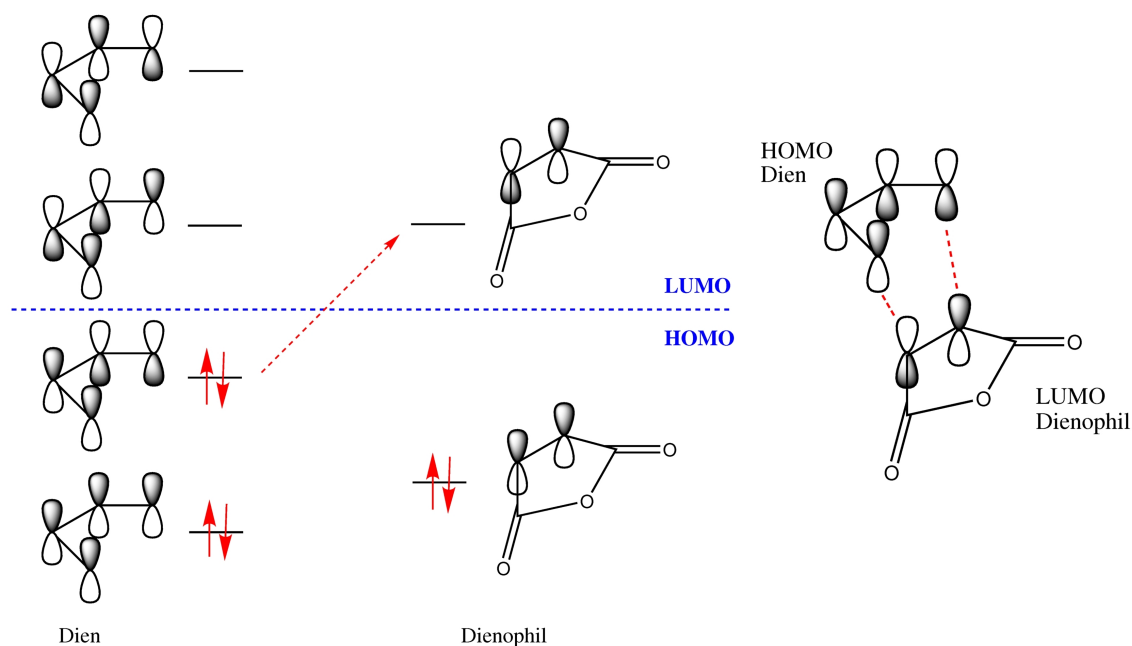
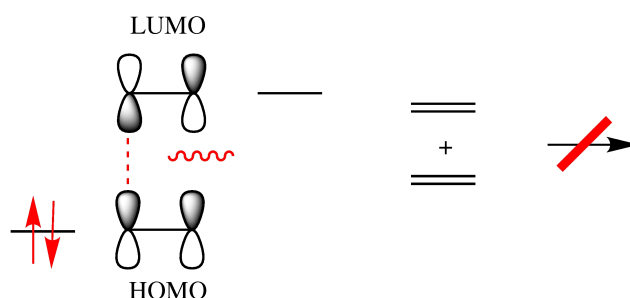


Abbildung 2.11: Molekülorbitale der Diels-Alder-Cycloaddition

Besitzen die miteinander wechselwirkenden Orbitallappen das gleiche Vorzeichen, so entsteht eine neue Bindung. Während die  $[4+2]$ -Cycloaddition der  $(4n+2)$ -Elektronen Regel genügt und somit thermisch induziert wird, gilt dies nach den Woodward-Hoffmann Regeln für die  $[2+2]$ -Cycloaddition nicht.

Betrachtet man die möglichen HOMO-LUMO-Wechselwirkungen für zwei Ethenmoleküle, so findet sich zunächst keine passende Kombination, da immer eine bindende und eine antibindende Wechselwirkung auftritt.

Abbildung 2.12: Thermische  $[2+2]$ -Cycloaddition

Diese Reaktion ist folglich thermisch nicht möglich, sie muss erst photochemisch angeregt werden. Dabei muss eines der Ethenmoleküle angeregt werden, ein Elektron des HOMO-Zustands wandert in den LUMO Zustand, der damit zum SOMO (single occupied molecular orbital) wird. Das SOMO kann daraufhin mit dem nicht-angeregten Ethenmolekül eine bindende Wechselwirkung eingehen.

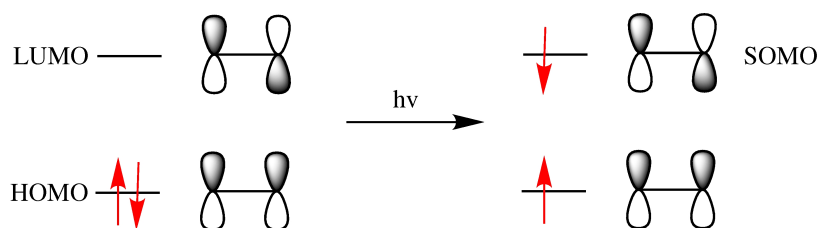


Abbildung 2.13: Photochemische Anregung

Für photochemisch induzierte Cycloadditionen gelten die komplementären Auswahlregeln zu thermisch induzierten Cycloadditionen. Cycloreversionen sind entsprechend eine Umkehrung der Reaktionsrichtung und unterliegen denselben Regeln wie die der entsprechenden Cycloaddition.

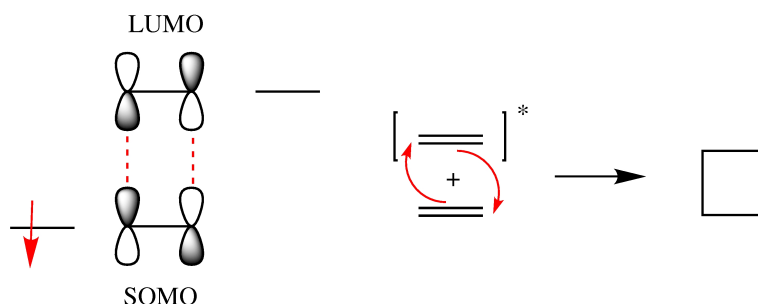


Abbildung 2.14: Photochemisch induzierte [2+2]-Cycloaddition

Mit Hilfe von sogenannten Sensibilatoren, wie Benzophenon, Acetophenon oder Aceton, können längerlebige Triplettzustände angeregt werden<sup>[42,45–47]</sup>. Diese Substanzen besitzen eine hohe *intersystem crossing*-Quantenausbeute und übertragen ihre Ener-

gie auf die Edukte, wodurch diese in den angeregten Zustand übergehen. Dabei kann es auch passieren, dass intermediäre 1,4-Biradikal-Zustände auftreten. Solch eine Reaktion läuft dann nicht mehr konzertiert ab und es ergeben sich andere Isomerenverteilungen.

#### 2.1.4 Zwei-Photonen-Absorption

Für die [2+2]-Cycloaddition wird für die photochemische Anregung Licht der Wellenlänge größer 300 nm benötigt. Für die Umkehrung der Reaktion sind Wellenlängen kleiner 300 nm nötig. Diese Umkehrreaktion wird für die Freisetzung des Wirkstoffes in den IOLs ausgenutzt, da mit Licht nicht-invasiv im Auge gearbeitet werden kann. Die Energie, die für die [2+2]-Cycloreversion nötig ist, kann sowohl durch einen Ein-Photon-Prozess (SPA) als auch über einen Zwei-Photonen-Prozess (TPA) zugeführt werden.

Im Allgemeinen wird bei lichtinduzierten Prozessen in Molekülen von der SPA gesprochen. Dabei muss die Energie des eingestrahlt Photons dem zu überwindenden Energieunterschied zwischen den zwei Zuständen entsprechen, damit es zu einer Absorption kommt. Bei niedrigen Intensitäten, wie z.B. der Sonneneinstrahlung, ist dies die einzige Möglichkeit für einen Übergang. Bei der Anwendung des Dimers im Auge ist diese Art der Spaltung nicht möglich, da die Hornhaut nur für Strahlung zwischen 360 nm und etwa 800 nm durchlässig ist. Die benötigte Wellenlänge von  $< 300$  nm für eine Cycloreversion kann nicht ins Auge eingestrahlt werden <sup>[48,49]</sup>. Um trotzdem die benötigte Energie für die [2+2]-Cycloreversion ins Auge gelangen zu lassen, bedient man sich der sogenannten Zwei-Photonen-Absorption.

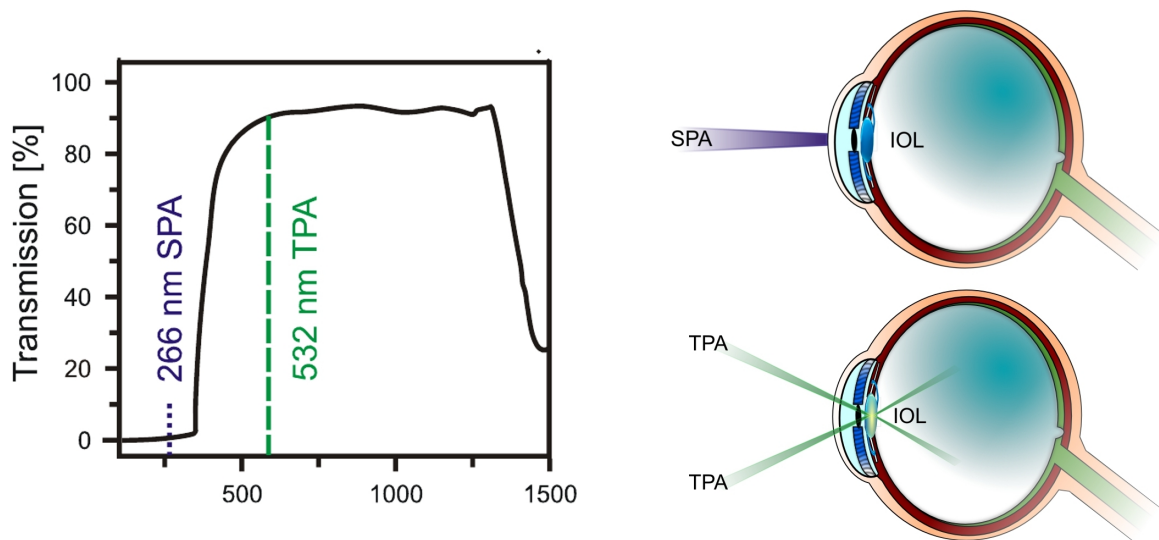


Abbildung 2.15: Transmissionsspektrum der Hornhaut<sup>[36]</sup> und Lage der SPA- und TPA-Anregung

Im Jahre 1931 wurde erstmals theoretisch über den Zwei-Photonen-Prozess von Maria Göppert-Meier berichtet<sup>[50]</sup>. Der Nachweis dieser Theorie konnte erst 30 Jahre später nach der Entwicklung des ersten Rubin-Lasers erbracht werden, da eine hohe Strahlungsintensität erforderlich ist. Wolfgang Kaiser und Charles G.B. Garrett berichteten 1961 erstmals über eine Zwei-Photonen Absorption in  $\text{CaF}_2:\text{Eu}_2^+$ <sup>[51]</sup>. An Dicoumarinen wurde bereits 1978 von Parma und Omenetto erfolgreich TPA-angeregte Fluoreszenzexperimente durchgeführt und der TPA Querschnitt für verschiedene Wellenlängen zwischen 510 und 650 nm bestimmt<sup>[52]</sup>.

Bei der TPA werden zwei Photonen absorbiert, die zusammen der Energiedifferenz des Übergangs entsprechen müssen. Dabei wird das System zunächst durch das erste Photon in ein nicht-resonantes, virtuelles und kurzlebiges Zwischenniveau angeregt und von dort aus durch das zweite, quasi zeitgleich einfallende Photon auf das Zielniveau gebracht. Aus dieser möglichst kurzen Zeitspanne zwischen den beiden einfallenden Photonen resultiert die Notwendigkeit einer hohen Photonendichte. Im einfachsten Falle besitzen beide Photonen jeweils die halbe Energie des Überganges, aber

auch unterschiedliche Energien sind möglich, solange die Summe denselben Wert ergibt. Das sogenannte virtuelle Niveau ist kein realer Energiezustand des Moleküls und kann damit auch nicht spektroskopisch gemessen werden.

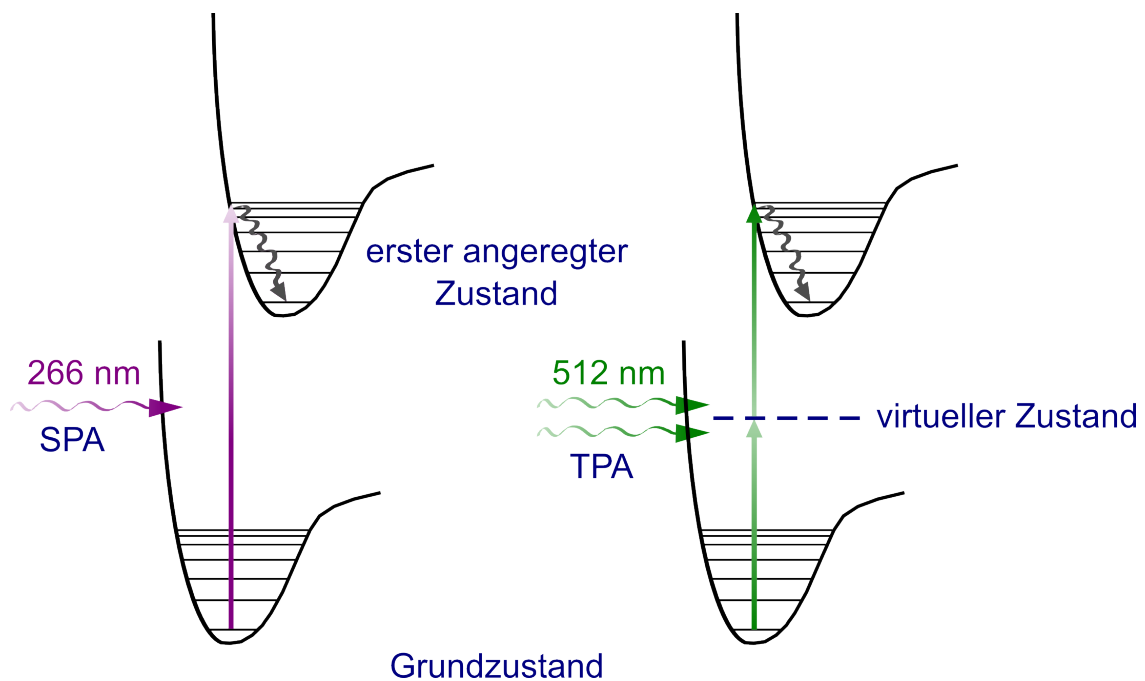


Abbildung 2.16: SPA und TPA Übergang

Die Übergangswahrscheinlichkeit eines TPA-Prozesses ist von der Lichtintensität wie folgt abhängig<sup>[53]</sup>:

$$\frac{W_{TPA}}{dt} = \frac{8\pi^2\omega}{n^2c^2} I^2 \text{Im}(\chi^{(3)}) \quad (2.1)$$

$\omega$  optische Frequenz

$n$  Brechungsindex

$c$  Lichtgeschwindigkeit

$I$  Intensität

$\text{Im}(\chi^{(3)})$  imaginärer Teil des Suszeptibilitätstensors 3. Ordnung



Vereinfacht ausgedrückt hängt die Übergangswahrscheinlichkeit vom Quadrat der Intensität ab.

$$W_{TPA} \propto I^2 \quad (2.2)$$

Die quadratische Abhängigkeit der TPA von  $I$ , im Gegensatz zur linearen Abhängigkeit bei der SPA, lässt sich aus dem Zusammenhang zwischen Photonendichte und Übergangswahrscheinlichkeit erklären. Um einen Übergang zu induzieren, müssen räumliche und zeitliche Komponente der Wellenfunktionen beider Photonen überlappen. Für die Anwendung bedeutet dies, dass ausschließlich im Laserfokus die Photonendichte zeitlich und räumlich für eine Überlappung groß genug ist und folglich die Photoreaktion auch nur dort stattfinden kann.

Um zu überprüfen, ob die induzierte Spaltung auch tatsächlich über einen TPA-Prozess abläuft, bestimmt man bei verschiedenen Pulsintensitäten die Anfangsgeschwindigkeiten der Cycloreversion und trägt diese doppeltlogarithmisch auf<sup>[54]</sup>. Dabei wird stets angenommen, dass die Quantenausbeute für die Spaltung für SPA und TPA gleich ist und die Konzentration der Lösung wird hoch genug gewählt, dass davon auszugehen ist, dass alle eingestrahlt Photonen absorbiert werden<sup>[54]</sup>.

$$\frac{d[c]}{dt} = v_0 = \sigma \cdot c_0 \cdot I^2 \cdot \Phi_{SPA} = k \cdot I^2 \quad (2.3)$$

$$\ln v_0 = \ln k + 2 \cdot \ln \frac{I}{I_0} \quad (2.4)$$

- $c$       Konzentration des Monomers
- $c_0$      Ausgangskonzentration an Dimer
- $\sigma$       Zwei-Photonen-Querschnitt
- $\Phi_{SPA}$    Ein-Photonen-Quantenausbeute

Handelt es sich tatsächlich um einen Zwei-Photonen Prozess, dann muss die Steigung nach Gleichung 2.4 den Wert 2 betragen.

Als ein Maß für die Wahrscheinlichkeit des TPA-Übergangs eines Moleküls wird der Zwei-Photonen-Querschnitt  $\sigma$  bestimmt. Zur Berechnung der Photonendichte wird zunächst die Lichtintensität des Lasers aus Pulsenergie  $P$  und Pulslänge  $\tau$  bestimmt.

$$I = \frac{P}{\tau} = \left[ \frac{J}{s} \right] \quad (2.5)$$

Aus der Intensität kann nun über die Energie eines Photons die Anzahl der Photonen  $n_{phot}$  berechnet werden. Die Wellenlänge des verwendeten Laserlichts beträgt  $\lambda = 532 \text{ nm}$ .

$$E_{532nm} = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad (2.6)$$

$$E_{532nm} = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ Js} \cdot \frac{3000000000 \text{ m}}{532 \cdot 10^{-9} \text{ m} \cdot s} = 3,74 \cdot 10^{-19} \text{ J} \quad (2.7)$$

$$n_{phot} = \frac{I}{E_{532nm}} = \left[ \frac{1}{s} \right] \quad (2.8)$$

Die Photonenanzahl muss auf die durchstrahlte Fläche  $A$  bezogen werden und man erhält den Photonenfluss  $F$ .

$$F = \frac{n_{phot}}{A} = \left[ \frac{1}{s \cdot cm^2} \right] \quad (2.9)$$

Um den Zwei-Photonen-Querschnitt für eine bestimmte [2+2]-Cycloreversion zu bestimmen, misst man die Anfangsgeschwindigkeiten  $v_0$  bei verschiedenen Intensitäten indem man die Änderung der Monomerkonzentration gegen die Belichtungszeit aufträgt. Dabei macht man sich meist den  $n \rightarrow \pi^*$ -Übergang der Carbonylgruppe im Monomer zunutze, der im Dimer nicht absorbiert, oder je nach Molekül eine andere charakteristische Absorptionsbande. Die Änderung der Konzentration wird dann durch UV/Vis-Spektroskopie verfolgt und die Änderung der Konzentration nach Lambert-Beer berechnet.

Die effektive Belichtungszeit berechnet sich aus der Frequenz der Pulse (20 Hz) und der Länge der Pulse (3 ns) zu  $6 \cdot 10^{-8}$  s. Über die Anfangsgeschwindigkeit kann die Anzahl der gespaltenen Cyclobutanringe  $n_{Cyclo}$  bestimmt werden.

$$n_{Cyclo} = v_0 \cdot V_{Lsg} = \left[ \frac{mol}{s} \right] \quad (2.10)$$

Das Volumen, in dem tatsächlich eine Spaltung stattfindet, ist durch die tatsächlich vom Laserstrahl belichtete Fläche limitiert. Der Laserstrahl besitzt einen kreisförmigen Durchmesser  $d$  von 5,5 mm, die bestrahlte Fläche beträgt aufgrund des flat-top Profils des verwendeten Lasers  $A = 0,237 \text{ cm}^2$ , das durchstrahlte Volumen bei einer 1 cm langen Küvette  $V_A = 0,237 \text{ cm}^3$ . Das durchstrahlte Volumen muss wiederum auf die Anzahl der Cyclobutanringe bezogen werden, die Anzahl der effektiv gespaltenen Moleküle im bestrahlten Volumen berechnet sich daher wie folgt.

$$n_{eff} = \frac{n_{Cyclo}}{V} = \left[ \frac{mol}{s \cdot L} \right] \quad (2.11)$$

Die effektiv gespaltenen Moleküle müssen nun noch auf die Anzahl der zu Beginn der Spaltung vorliegenden Cyclobutanringe bezogen werden.<sup>[53,55]</sup>

$$\sigma = \frac{n_{eff}}{\Phi_{SPA} \cdot F^2 \cdot c_0} = \left[ \frac{1}{s \cdot cm^4} \right] \quad (2.12)$$

Der Zwei-Photonen-Querschnitt wird in der Einheit Göppert-Meier [ $GM = 10^{-50} \cdot \frac{cm^4 \cdot s}{Photon}$ ] angegeben.

### 2.1.5 Infinity Laser-System

Für die TPA Messungen wurde ein Nd:YAG Laser *Infinity* der Firma Coherent verwendet. Dieser besteht aus einem 4-Niveau, GaAs-diodengepumpten, güte-geschalteten Ringlaser, der zunächst einen 8 ns, gaußförmigen Puls, einen sogenannten TEM<sub>00</sub>-Puls, mit etwa 30  $\mu\text{J}$  liefert und einer nachgeschalteten Verstärkerstufe mit zwei von einer Blitzlichtlampe gepumpten Nd:YAG-Stäben, die ein flat-top Intensitätsprofil der Lichtpulse erzeugen.

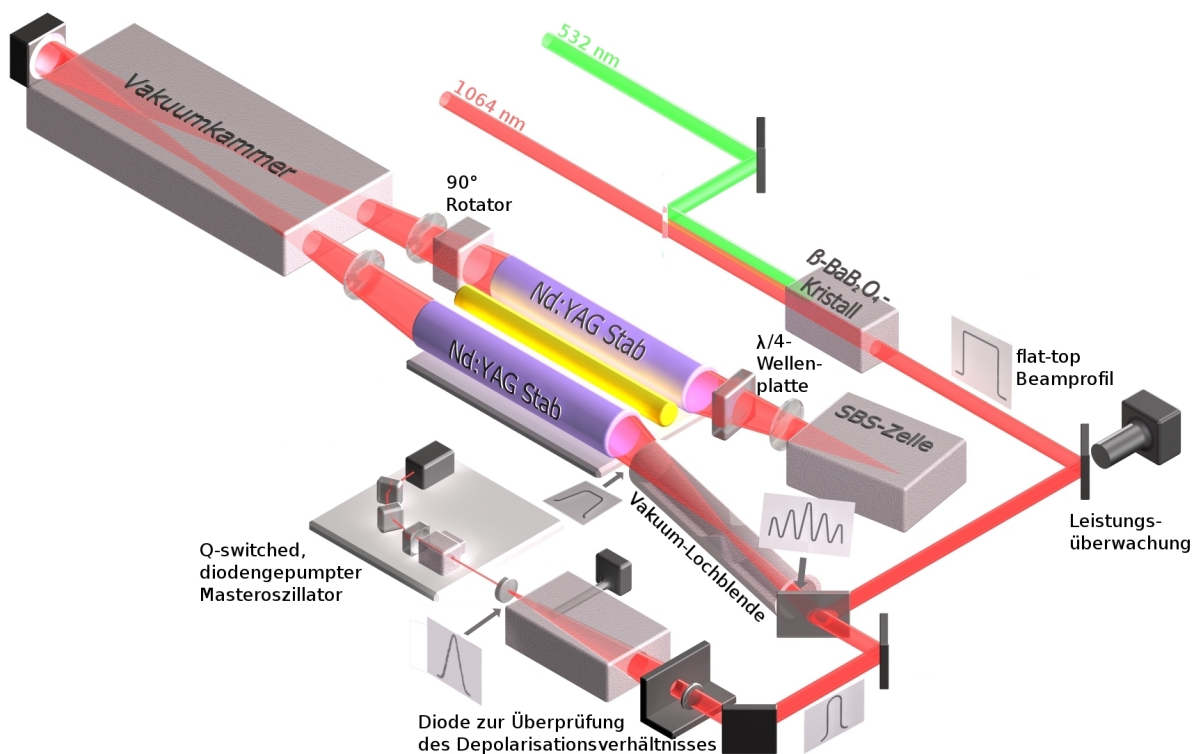


Abbildung 2.17: Schematischer Aufbau des *Infinity*-Lasersystems

Die Nd:YAG-Stäbe der Verstärkerstufe werden vom Lichtpuls je zweimal durchlaufen, eine vorgeschaltete Lochblende sorgt für die Unterdrückung von Hintergrundemissionen und Abbildungen höherer Ordnung. Thermisch induzierte Doppelbrechungen und die daraus resultierenden Phasenverschiebungen in den Nd:YAG-Stäben

werden durch 90°-Drehung der Polarisation und einer speziellen optischen Abbildung in der Vakuumkammer, dem sogenannten „relais imaging“, einer Umkehr der coaxialen Koordinaten, kompensiert. Die Pulse werden mit Hilfe eines akustooptischen Gütemodulators (Q-switch) auf 3 ns lange Pulse aufgeteilt. Die SBS-Zelle reflektiert als phasenkonjugierender Spiegel durch stimulierte Brillouin-Streuung in Bromtrifluormethan (Freon®) den Puls und lässt ihn denselben optischen Weg mit invertierten Wellenfronten zurück durchlaufen, sodass Phasenstörungen aus dem ersten Durchlauf korrigiert werden können.

Durch den zweimaligen Durchgang durch die Viertelwellen-Verzögerungsplatte ist der Lichtpuls am Dünnschicht-Polarisator um 90° gedreht. Der so ausgekoppelte Laserpuls besitzt nun ein flat-top Intensitätsprofil, welches für die homogene und gleichmäßige Bestrahlung der empfindlichen TPA-Bestimmungen erforderlich ist.

Die IR-Strahlung von 1064 nm wird anschließend noch durch einen doppelbrechenden  $\beta$ -BaB<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-Kristall frequenzverdoppelt und man erhält Laserpulse der Wellenlänge 532 nm. Diese Frequenzverdopplung im Kristall resultiert aus der nichtlinearen Optik bei hohen Lichtintensitäten<sup>[56]</sup>. Bei 532 nm können Pulsfrequenzen von bis zu 100 Hz mit einer Pulsenergie von bis zu 250 mJ erhalten werden.

## **Durchführung der SPA- und TPA-Messungen**

### **Ein-Photonen-Quantenausbeute**

Bei der Bestimmung der SPA-Quantenausbeute der Cycloreversion wurden die entsprechenden Dimere in Acetonitril gelöst und bei 266 nm im Fluoreszenzspektrometer für eine definierte Zeitspanne bestrahlt. Anschließend wurde die Änderung der Absorption im UV/Vis Spektrometer gemessen und daraus die Differenzspektren bestimmt.

Zur Berechnung der Quantenausbeute wurden zunächst die Anfangskonzentrationen  $c_0$  über den Extinktionskoeffizienten  $\epsilon$  einer charakteristischen Monomerbande

bestimmt und gegen die Zeit aufgetragen, um die Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  zu bestimmen<sup>[57]</sup>. In diesem Anfangsbereich wird angenommen, dass alle eingestrahnten Photonen auch absorbiert werden. Die Anzahl der Moleküle soll dabei größer sein, als die der Photonen.

$$n_{Dim} = v_0 \cdot V \cdot N_A \quad (2.13)$$

$$n_{Phot} = \frac{E_{Leistung \text{ pro } cm^2}}{E_{266 \text{ nm}}} = \frac{E_{Leistung \text{ pro } cm^2}}{7,47 \cdot 10^{-19} J \cdot s} \quad (2.14)$$

Die Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  wird in die Anzahl der umgesetzten Dimermoleküle  $n_{Dim}$  umgerechnet und durch die Anzahl der Photonen pro Sekunde  $n_{Phot}$  geteilt. Die tatsächlich bestrahlte Fläche ist dabei schon in der Bestimmung der Photonenzahl berücksichtigt.

$$\Phi = \frac{n_{Dim}}{n_{Phot}} \quad (2.15)$$

## Zwei-Photonen-Querschnitt

Für die TPA-Messungen wurden dieselben Lösungen wie für SPA verwendet und unter Rühren in der Küvette mit Pulsen von 3 ns bei 532 nm bestrahlt. Der Verlauf der Spaltung wurde ebenfalls mittels UV/Vis beobachtet und die Konzentrationen nach Lambert-Beer bestimmt. Um einen Mittelweg zwischen dichter Pulsfolge und möglichst guter Durchmischung zu gewährleisten, wurde eine Frequenz von 20 Hz gewählt und die Probe während der Bestrahlung mit einem Küvettenrührer gerührt. Über die Absorptionsänderung wurde wie bei der SPA mittels des Extinktionskoeffizienten auf die Konzentration zurückgerechnet und daraus die Anfangsgeschwindigkeit in Abhängigkeit der eingestrahnten Energien bestimmt. Pro Substanz wurden jeweils vier Messreihen zwischen 20 und 90 mJ Pulsenergie durchgeführt.

### 2.1.6 Wirkstofffreisetzung aus Polymermaterialien

Für die Freisetzung von Wirkstoffen aus Polymermaterialien gibt es verschiedene, jeweils auf die spezifische Anwendung zugeschnittene Systeme<sup>[58]</sup>.

**Diffusionskontrollierte Drug Delivery Systeme** Der freizusetzende Wirkstoff liegt in der Polymermatrix gelöst oder dispergiert vor. Seine Freisetzung erfolgt durch Ficksche Diffusion, die bei Kontakt des funktionalisierten Polymers mit umgebendem Medium einsetzt. Die Diffusion wird von der Brownschen Molekularbewegung getrieben und von verschiedenen Faktoren, wie Quellen oder Degradation der Matrix beeinflusst. Es lassen sich entsprechend ihres Aufbaus zwei Arten unterscheiden: Matrix- und Reservoirsysteme.

**Lösungsmittelkontrollierte Drug Delivery Systeme** Das trocken vorliegende Polymer wird mit einer Flüssigkeit zum Quellen gebracht. Während des Quellens wird die Diffusion von Wirkstoff an der Phasengrenze zwischen trockenem Polymer und eindringendem Medium ermöglicht. Die Phasengrenze wandert mit konstanter Geschwindigkeit durch das Polymer, wodurch eine gleichmäßige Wirkstofffreisetzung ermöglicht wird.

**Chemisch kontrollierte Drug Delivery Systeme** Der Wirkstoff wird in diesem Fall durch biologischen Abbau der Polymermatrix, man unterscheidet entsprechend ihres Abbaus zwischen Bulk- und Oberflächenerosion, oder durch eine chemische Reaktion freigesetzt und diffundiert anschließend entsprechend einem diffusionskontrollierten Drug Delivery System aus der Matrix. Die Kinetik ist hier von der Geschwindigkeit des Polymerabbaus und der Fickschen Diffusion des freigesetzten Wirkstoffes abhängig.

**Stimuli sensitive Drug Delivery Systeme** Die Freisetzung wird durch eine Veränderung des pH-Wertes, der Temperatur, durch Magnetismus, Elektrizität, Ultraschall u.a. ausgelöst.

Für die Anwendung als wirkstoffbeladene Intraokularlinsen, deren Freisetzung mittels Photochemie ausgelöst wird, stellt das System der chemisch- und diffusionskontrollierten Drug Delivery die beste Beschreibung dar. Da das Polymer bereits vor dem Einsatz als IOL ausreichend in wässrigem Medium gequollen ist, liegt ein gleichmäßig von Flüssigkeit durchdrungenes Hydrogel vor. Der Wirkstoff ist in diesem Zustand noch kovalent gebunden.

Bei der photochemischen Freisetzung wird dieser nun im Bestrahlungsbereich freigesetzt. Es ist anzunehmen, dass zunächst die Wirkstoff-Linker-Konjugate an der Oberfläche des Polymers aktiviert werden, später dann tiefer im Polymer liegende. Ist der Wirkstoff nun im Bestrahlungsbereich freigesetzt, liegt er in der Polymermatrix gelöst vor und wird nun rein von der Fickschen Diffusion getrieben in das umliegende Medium wandern. Die hier treibenden Kräfte bei der Fickschen Diffusion sind Konzentration- und Partialdruckkräfte zwischen dem Drug Delivery System und dem umgebenden Medium.

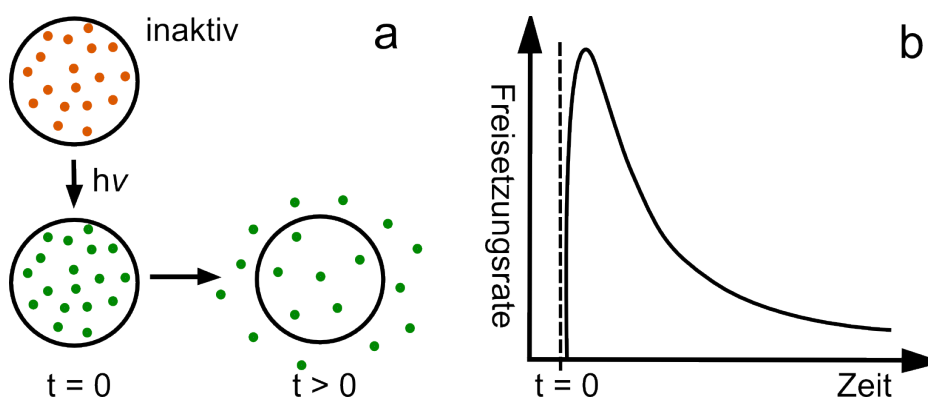


Abbildung 2.18: Matrixsystem mit vollständig gelöstem Wirkstoff nach photochemischer Aktivierung (a) diffusionsgesteuerte Freisetzung nach Aktivierung, (b) Freisetzungsrate in Abhängigkeit der Zeit  $t$



In Abb.2.18 ist zu erkennen, dass bei der diffusionskontrollierten Wirkstofffreisetzung aus einem Matrixsystem die Freisetzungsgeschwindigkeit zuerst sehr hoch ist und dann mit zunehmender Dauer der Freisetzung abnimmt. Dieser Effekt wird Burst-Effekt genannt und ist in diesem Fall erwünscht. Verursacht wird er durch die verstärkte Freisetzung des Wirkstoffes aus Randschichten zu Beginn des Prozesses, im weiteren Verlauf flacht das Profil durch den länger werden Diffusionsweg für die Moleküle aus dem inneren der Polymermatrix immer mehr ab<sup>[58]</sup>.

Die Fickschen Gesetze beschreiben den makroskopischen Molekulartransport entlang eines Konzentrationsgradienten für diesen Fall. Die Diffusion des Wirkstoffs in Abhängigkeit von der Zeit kann mit Hilfe des zweiten Fickschen Diffusionsgesetzes beschrieben werden.

$$\frac{\delta c}{\delta t} = D \cdot \frac{\delta^2 c}{\delta x^2} \quad (2.16)$$

$c$  Konzentration

$t$  Zeit

$x$  Ort

Die lokale Konzentrationsänderung  $\frac{\delta c}{\delta t}$  eines Systems mit der Zeit ist proportional zur Änderung des Konzentrationsgradienten  $\frac{\delta^2 c}{\delta x^2}$  mit dem Diffusionsweg, der Diffusionskoeffizient  $D$  der Substanz in der Matrix kann dabei konzentrationsabhängig sein<sup>[59]</sup>.

Das Ficksche Diffusionsprofil kann durch verschiedene Faktoren noch beeinflusst werden. Der Wirkstoff kann im Polymer in größeren Mengen als die der Sättigungskonzentration vorliegen, wodurch ein Teil des Wirkstoffes noch ungelöst dispergiert verteilt ist und als Reservoir dient. Auch die Löslichkeit des Wirkstoffes in der Matrix spielt hier eine Rolle. Die Geschwindigkeit des Übergangs des Wirkstoffes in die

Elutionslösung und die Geometrie der Matrix spielen eine weitere Rolle. Weitere Parameter, die die Diffusionseigenschaften aus dem Polymer beeinflussen können sind die molekulare Masse des Wirkstoffes, physiochemische Wechselwirkungen mit der Polymermatrix oder Strukturveränderungen der Matrix aufgrund thermischer Übergänge. Außerdem kann die Polymermatrix durch den Herstellungsprozess bereits Poren aufweisen oder diese entstehen aufgrund sehr hoher Wirkstoffbeladung während der Freisetzung.<sup>[59]</sup>

Da es sich beim hier verwendeten Polymer jedoch um ein einfaches monolithisches System mit einer Wirkstoffbeladung von unter 5 Vol.% Beladung handelt, kann dieser Effekt vernachlässigt werden. Komplexe monolithische System sind durch eine höhere Beladung von über 5 Vol.% gekennzeichnet<sup>[60]</sup>, hierbei können sich während der Freisetzung Hohlräume und Kanäle im Polymer bilden, die die Diffusionsgeschwindigkeit deutlich beeinflussen.

### 2.1.7 5-Fluoruracil

5-Fluoruracil (5FU) ist ein Analogon der Nukleinbase Uracil, das am C5-Atom ein Fluor trägt. 5FU wurde bereits 1957 als Zytotoxikum von Heidelberger et. al.<sup>[61]</sup> entdeckt und ist mittlerweile das meistverwendete Zytostatikum für die Chemotherapie.

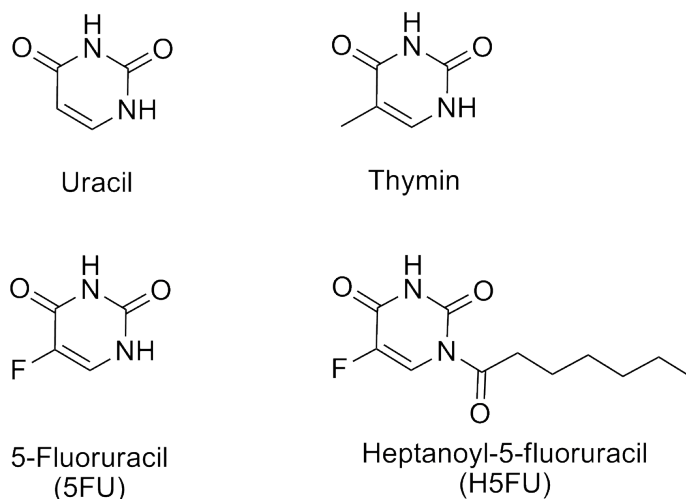


Abbildung 2.19: Uracil und seine Analoga

Aufgrund seiner Ähnlichkeit sowohl mit Uracil, als auch mit den anderen Pyrimidinbasen Cytosin und Thymin, wird es bei der RNA und DNA Synthese anstelle dieser eingebaut und wirkt als Antimetabolit auf die Zellteilung. Neben weiteren Auswirkungen auf die Zellteilung ist die primäre zytotoxische Wirkung des 5FUs die Inhibierung der Thymidilat-Synthase. Thymidilat-Synthase ist ein Enzym der Biosynthese, das Uracil in Form von Uridinmonophosphat zu Desoxythymidinmonophosphat methyliert. Bei Vorhandensein von 5FU wird dieses System blockiert und ein irreversibler Zelltod durch Thyminmangel tritt ein<sup>[62,63]</sup>.

5-Fluoruracil wird entweder direkt (Ancotil®, Efudex®) verabreicht oder in Form der Prodrug Capecitabin (Xeloda®) und erst in der Zelle mittels enzymatischer Spaltung zum aktiven Metaboliten umgewandelt. Ein weiteres Anwendungsgebiet ist die Gabe von 5FU als Antifibrotikum zur Narbenvermeidung nach Glaukomoperationen, wenn der Augeninnendruck durch Gabe von Medikamenten nicht ausreichend gesenkt werden konnte<sup>[64–66]</sup>.

Diese Anwendung bringt auch für die Verwendung des 5FUs als Zytostatikum gegen Linsenepithelzellen den erheblichen Vorteil, dass 5FU bereits als Medikament für die Ophthalmologie erprobt ist und keine unbekannten Nebenwirkungen bei Freisetzung im Auge zu erwarten sind<sup>[67]</sup>. Die Anwendung von 5FU als Zytostatikum gegen Epithelzellen im Auge wurde bereits am Kaninchenauge untersucht <sup>[68,69]</sup>. 5FU zeigte im direkten Vergleich mit Mitomycin C, einem zytostatischen Antibiotikum, eine signifikant bessere Nachstarprävention und führte zugleich zu keinen okularen Komplikationen innerhalb des postoperativen Nachbeobachtungszeitraumes von zwei Monaten<sup>[68]</sup>. Die LD<sub>50</sub>-Dosis von 5FU gegenüber Linsenepithelzellen im Kaninchenauge beträgt 0,58 µg/mL<sup>[70]</sup>. Zusätzlich besitzt das 5FU auch eine direkt zur Dimerisierung verwendbare Doppelbindung, welche für die Anbindung mittels [2+2]-Cycloaddition sehr günstig ist. Entsprechende Vorversuche mit heptanoylgeschütztem 5FU (H5FU) wurden bereits von S. Härtner erfolgreich durchgeführt. Auf einer wirkstoffbeladenen Polymerplatte wurden Bauchspeicheldrüsenkrebszellen ge-

zuchtet, die Polymerplatte wurde anschließend belichtet und eine deutliche Hemmung des Zellwachstums beobachtet<sup>[36]</sup>.

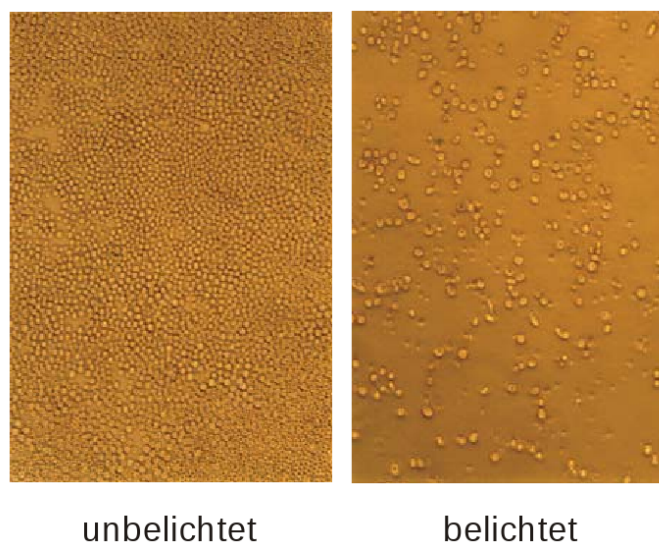


Abbildung 2.20: *In vitro* H5FU Freisetzung aus Polymer<sup>[36]</sup>

Die Anbindung des 5FUs an Coumarin gelang hier allerdings nur mit bereits im Polymer kovalent gebundenem Coumarin, da dieses ansonsten bevorzugt mit sich selbst dimerisiert. Diese Methode bringt jedoch den Nachteil mit sich, dass der genaue Beladungsgrad sowie die photochemischen Eigenschaften des Linker-Wirkstoff-Konjugats nicht untersucht werden konnten. Das Prodrug H5FU besitzt des weiteren noch die hydrolysierbare Heptanoylgruppe, die ebenfalls vor dem Einsatz als Wirkstoffdepot im Körper entfernt werden muss. Hier stellt die Hydrolyseempfindlichkeit des Coumarindimers wiederum ein Problem dar, da auch der Lactonring hydrolysieren kann und das neu entstehende Linkermolekül anderen Spaltungsreaktionen bei Bestrahlung unterliegt.

Aus diesen Gründen sollen neue Linkermoleküle, mit verbesserten Eigenschaften, entwickelt werden.

## 3 Zielsetzung

### 3.1 Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung einer wirkstoffbasierten Behandlung des Nachstars mittels 5FU und die Weiterentwicklung eines photochemisch aktivierbaren wirkstoffbeladenen Polymers. An der Philipps-Universität Marburg wurden bereits mehrere Arbeiten in diesem Themenkomplex erfolgreich beendet. Die hier vorgestellte Arbeit soll an die vorangegangenen Arbeiten anknüpfen und neue Entwicklungen zum Ziel der photoinduzierten Wirkstoffbehandlung des Nachstars beitragen.

Die Behandlung des Nachstars nach dem aktuellen Stand der Technik ist mit der Laserkapsulotomie noch nicht ausreichend gelöst. Die thermische Zerstörung des hinteren Teils des Kapselsacks ist zum einen ein irreversibler Eingriff und zerstört ausschließlich die Linseneithelzellen auf dem hinteren Teil des Kapselsacks. Auf die Vorderseite von Kapselsack und Linse migrierte Zellen können mit dieser Methode nicht angegriffen werden. Des weiteren nimmt die IOL bei der intensiven Bestrahlung häufig Schaden und das Risiko für Pseudophakieamotio nimmt stark zu<sup>[2]</sup>.

Die einzige bisherige Alternative zur Laserkapsulotomie ist der erneute operative Eingriff am erkrankten Auge<sup>[71]</sup>, um eine chirurgische Nachstarabsaugung vorzunehmen. Um eine Operation zu vermeiden, sollte der Wirkstoff zur Nachstarbekämpfung bereits mit der Implantation der IOL ins Auge eingebracht werden.

Die im Folgenden vorgestellten Systeme machen sich die in den vorangegangenen Kapiteln diskutierten Eigenschaften der Dimerisierung von verschiedenen, als Linker für 5FU infrage kommenden Molekülen und die TPA induzierte Reversion der Dimerbindung zunutze. Nach der Implantation einer IOL ist es zunächst wichtig, dass die Wundheilung ungestört stattfinden kann. Ein sustained-drug-release System wäre hier kontraproduktiv. Es ist erforderlich, dass ein Wirkstoffdepot in der IOL erst bei Bedarf gezielt aktiviert wird, da der Nachstar zu einem nicht vorher bestimmbaren Zeitpunkt auftritt.

Es bietet sich an, das IOL-Material chemisch so zu modifizieren, dass ein Wirkstoffdepot in der IOL bereits vor der Implantation besteht. Die gezielte Freisetzung des Wirkstoffes kann anschließend aufgrund der Lichtdurchlässigkeit des Auges über Photochemie aktiviert werden. Als photochemisch aktive Systeme sind Cyclobutanringe attraktiv, da sie synthetisch über [2+2]-Cycloadditionen aufgebaut werden können und die benötigte Energie für die anschließende Freisetzung mittels TPA in hornhautdurchlässigen Wellenlängenbereichen liegt. Die Verwendung zweier Laserstrahlen mit einer kurzen Brennweite ermöglicht es, die notwendige hohe Laserintensität auf der Retina zu minimieren und gibt zugleich die Möglichkeit einer sehr genau kontrollierbaren Freisetzung.

Die vorgelegte Arbeit konzentriert sich auf die synthetische Entwicklung und Optimierung eines Linkersystems zur Immobilisierung von 5FU, die Effektivität photochemischer Spaltungen der synthetisierten Linker-Wirkstoff-Konjugate sowie die Charakterisierung und Analytik der Freisetzung des Wirkstoffes aus dem fertigen Polymermaterial.

Folgende Linker wurden synthetisiert und bei vielversprechenden photochemischen Eigenschaften im Polymer untersucht:

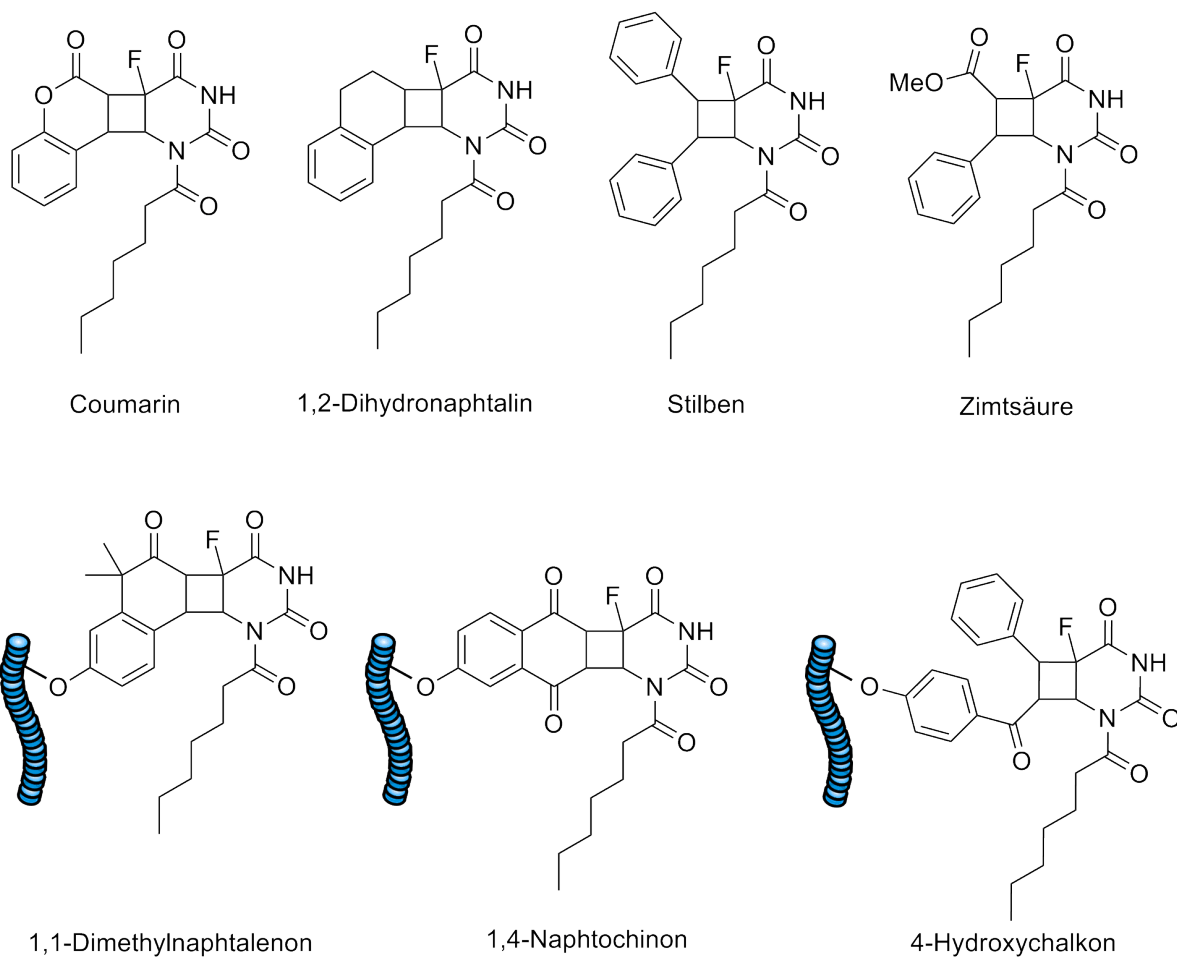


Abbildung 3.1: Potentielle Linkerstrukturen für die Wirkstofffreisetzung von 5FU

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Monomere für die Wirkstoffimmobilisierung

Auf dem Gebiet der photochemischen Wirkstofffreisetzung via Zwei-Photonen-Absorption wurden sämtliche vorangegangene Arbeiten bisher an Verbindungen mit Coumarinen als Linkermolekül durchgeführt<sup>[35,36,72–77]</sup>. Coumarin ist in der Lage photoinduzierte [2+2]-Cycloadditionen und -reversionen einzugehen<sup>[78–81]</sup>, bringt jedoch aufgrund seiner Struktur auch einige negative chemische Eigenschaften mit sich. Durch den Lactonring sind Coumarindimere relativ instabil gegenüber Nucleophilen oder nucleophilen Lösungsmitteln<sup>[72,82–84]</sup>.

Diese greifen am Lacton an und hydrolysieren stets irreversible den Ring in beiden Coumarinen des Dimers. Dies führt zu einer veränderten Photochemie, bei der die Cycloreversion nicht mehr symmetrisch verläuft<sup>[83]</sup> und die Gefahr besteht, dass bei head to head-Homodimeren der Linker-Wirkstoff-Komplex nicht spaltet und keine Freisetzung von Wirkstoff mehr möglich ist<sup>[85]</sup>.



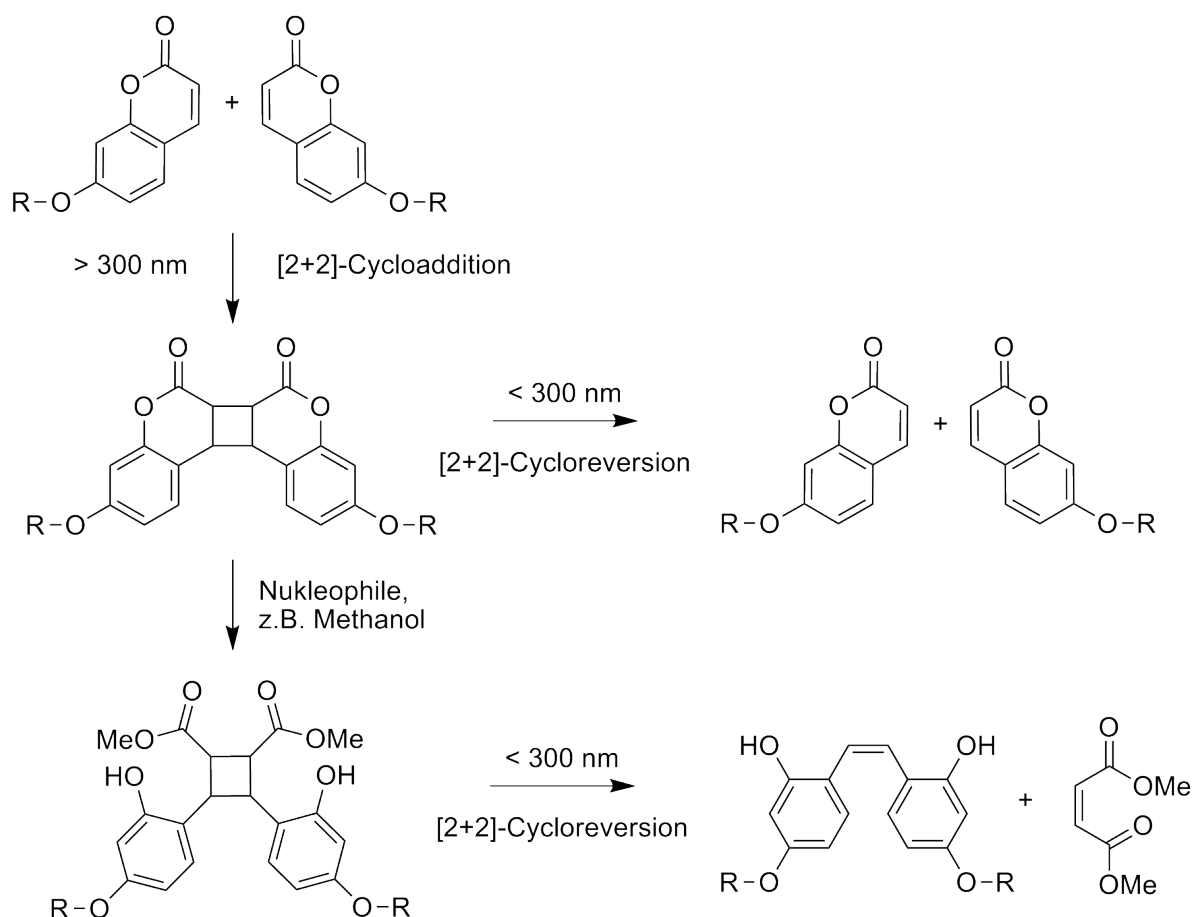


Abbildung 4.1: Cycloreversion von Dicoumarin und hydrolysiertem Dicoumarin

Aus diesem Grund wurde nach Alternativen für das Coumarin gesucht. Als naheliegendste Lösung wurde zunächst ein Monomer synthetisiert, dass keinen Lactonring besaß und damit kein unerwünschter nucleophiler Angriff mehr möglich war. Anstelle des Sauerstoffs wurde ein Kohlenstoff-Atom eingefügt. Um zu vermeiden, dass sich das Molekül zu  $\beta$ -Naphthol umlagert, das Aufgrund der zwei aromatischen Systeme bevorzugt wäre, wurde das neue C-Atom mit zwei Methylgruppen sterisch abgesättigt<sup>[85–87]</sup>.

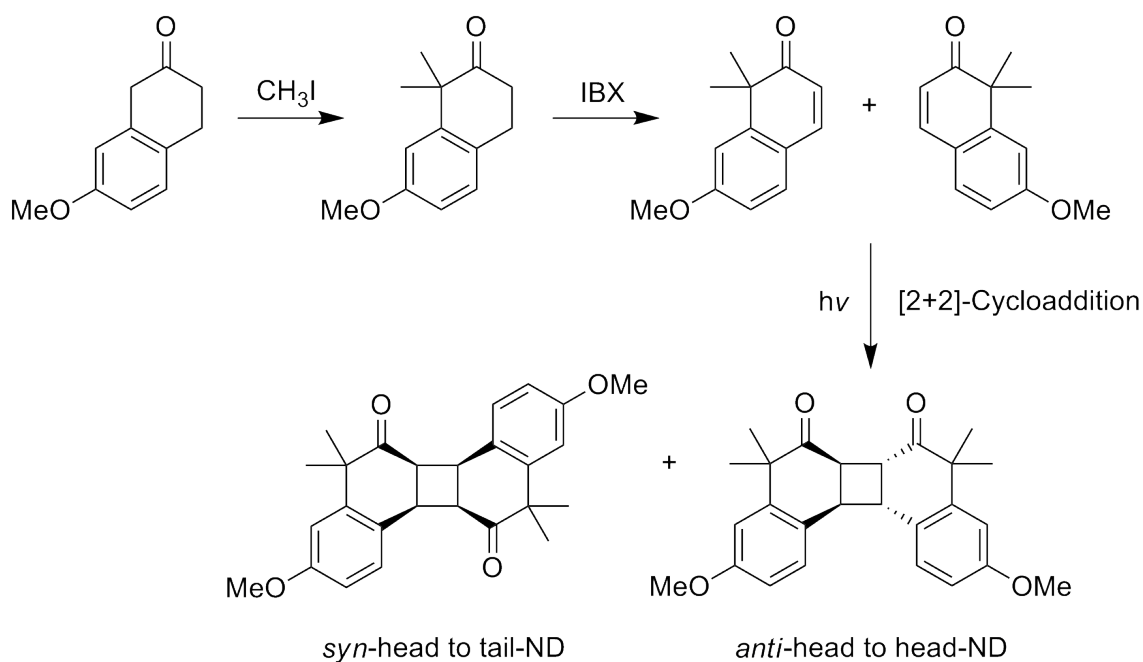


Abbildung 4.2: Synthese von 7-Methoxy-1,1-Dimethylnaphtalenon und Dimerisierung zu 1,1-Dimethylnaphtalenondimeren(ND)

Das 7-Methoxy-1,1-Dimethylnaphtalenon wurde anschließend im Photoreaktor zu 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon-Dimer (ND) dimerisiert und seine photochemischen Eigenschaften untersucht. Es wurden *syn*-head to tail-ND und *anti*-head to head-ND als Hauptprodukte erhalten (s. Kap. 5.1.5).

Beide Dimere wurden auf ihre photochemischen Eigenschaften untersucht. Für die Verfolgung der photochemische Spaltung wurde die Monomerbande bei 331 nm verwendet wie in Abb.4.3 abgebildet.

Der Extinktionskoeffizient betrug  $\epsilon_{331} = 10250 \frac{\text{L}}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$  [85].

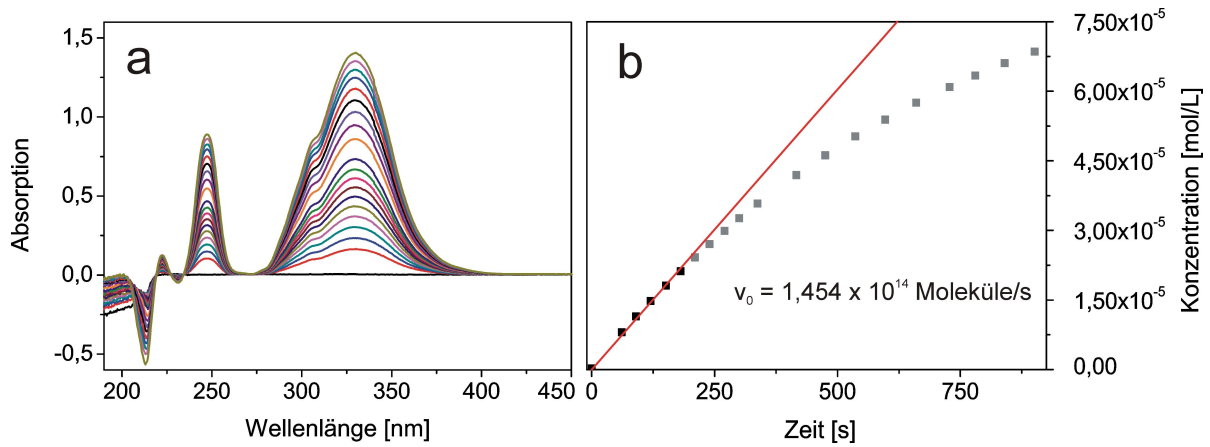


Abbildung 4.3: (a) Monomerbande bei 331 nm während der SPA von *anti*-head to head-ND und (b) zunehmende Monomerkonzentration

Die Anfangsgeschwindigkeit der Ein-Photonen-Spaltung für *anti*-head to head-ND wurde zu  $v_0 = 1,454 \cdot 10^{14}$  Moleküle/s bestimmt, die SPA-Quantenausbeute betrug  $\phi_{SPA} = 0,12$ .

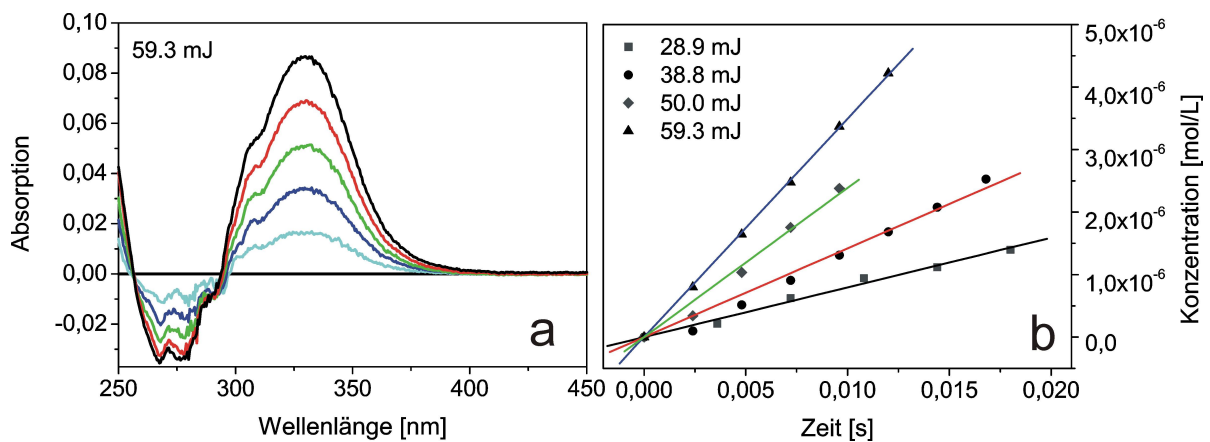


Abbildung 4.4: (a) Monomerbande bei 331 nm während der TPA von *anti*-head to head-ND für 59,3 mJ und (b) zunehmende Monomerkonzentration bei unterschiedlichen Energien

Die Zwei-Photonen-Absorption wurde bei vier verschiedenen Energien gemessen, 28.9, 38.8, 50.0 und 59.3 mJ, die Änderung der Monomerkonzentration ist proportional zur eingestrahlten Energie. Es wurden wiederum die Anfangsgeschwindigkeiten berechnet und die doppellogarithmische Auftragung der Anfangsgeschwindigkeit gegen die Laserleistung zum Beweis des Zwei-Photonen-Prozesses bestimmt.

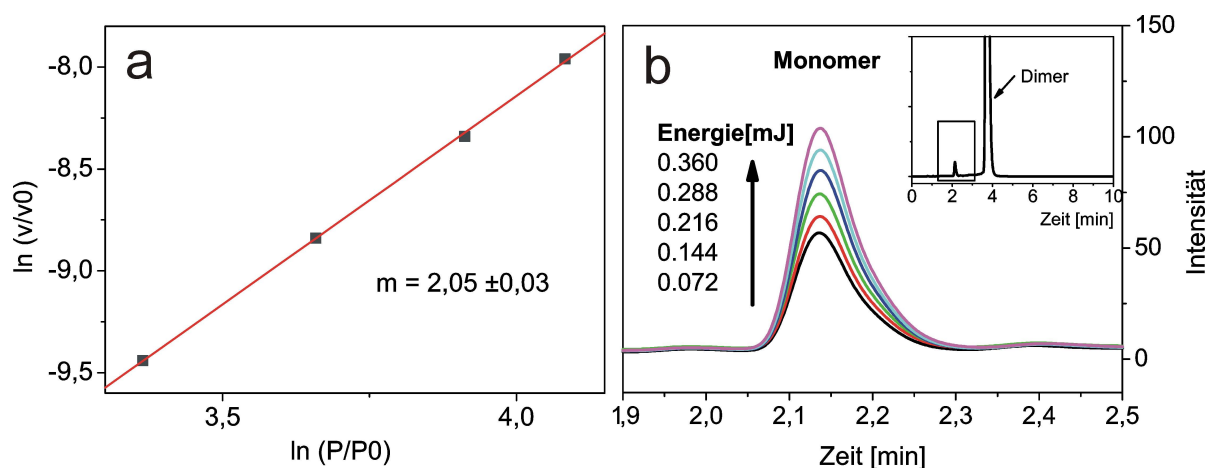


Abbildung 4.5: (a) Doppeltlogarithmische Auftragung der Energien gegen die Anfangsgeschwindigkeiten und (b) HPLC Chromatogramm der TPA Spaltung von *anti*-head to head-ND

Der Wert von 2.05 korreliert sehr schön mit dem aus der Theorie erwarteten Wert von 2. Um sicherzugehen, dass bei diesem Prozess ausschließlich das Monomer wieder gebildet wurde, wurden die Proben nach Abschluss der Messungen noch in der HPLC analysiert. Es wurde ausschließlich 1,1-Dimethylnaphtalenon-Monomer und -Dimer identifiziert. Der TPA Querschnitt lag mit 9,8 GM um das 10fache höher als der von Dicoumarin mit etwa 1 GM<sup>[38]</sup>.

Für *syn*-head to tail-ND wurden die analogen Experimente durchgeführt.

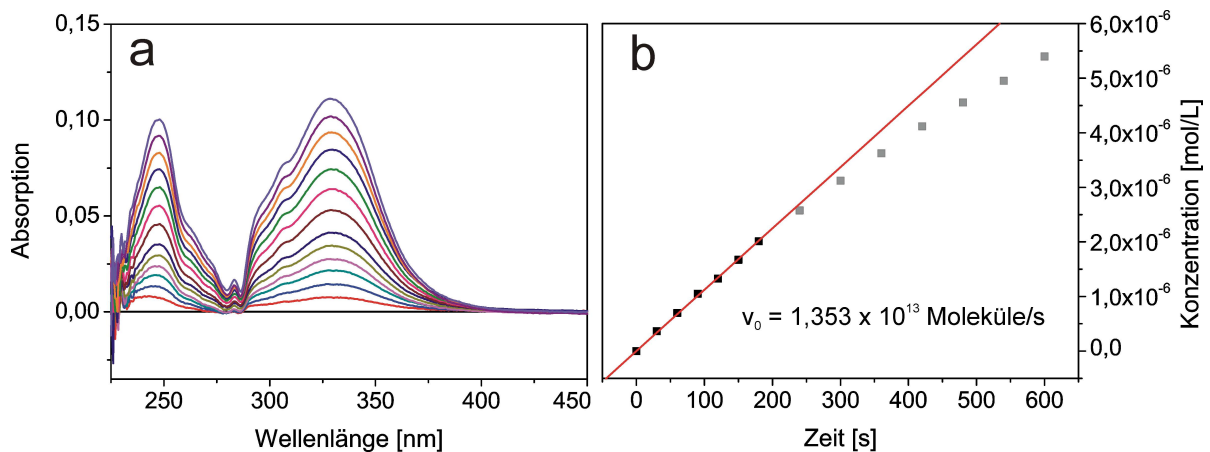


Abbildung 4.6: (a) Monomerbande bei 331 nm während der SPA von *syn*-head to tail-ND und (b) zunehmende Monomerkonzentration

Für das *syn*-head to tail-ND wurde die Anfangsgeschwindigkeit der Ein-Photonen-Spaltung zu  $v_0 = 1,353 \cdot 10^{13}$  Moleküle/s bestimmt, die SPA-Quantenausbeute betrug  $\phi_{SPA} = 0,01$  und ist damit um Faktor 10 kleiner als die für *anti*-head to head-ND.

Die TPA-Messungen wurden für *syn*-head to tail-ND analog bei 40.0, 50.0, 59.5 und 70.0 mJ gemessen. Auch hier betrug der Wert der doppeltlogarithmischen Auftragung 2. Der TPA-Querschnitt wurde für dieses Isomer zu 12,7 GM bestimmt und ist damit nochmals größer als der für *anti*-head to head-ND.

Das *syn*-head to tail Isomer besitzt damit einen niedrigeren Wert für die Ein-Photon-Absorption, dafür einen höheren Zwei-Photonen-Querschnitt als das *anti*-head to head-ND. Dieses Ergebnis resultiert wahrscheinlich aus den unterschiedlichen Elektronenverteilung durch die unterschiedlichen Konfigurationen und damit der unterschiedlichen Absorption im Molekül, da alle weiteren Parameter für beide Dimere gleich sind. Zu beachten ist allerdings auch der mathematische Fehler durch die notwendige Annahme, dass die Quantenausbeute für die Spaltung für SPA auch für die TPA-Berechnung gültig ist<sup>[54]</sup>. Ein kleinerer Wert für SPA führt nach Gleichung 2.12 zu größeren TPA Werten.

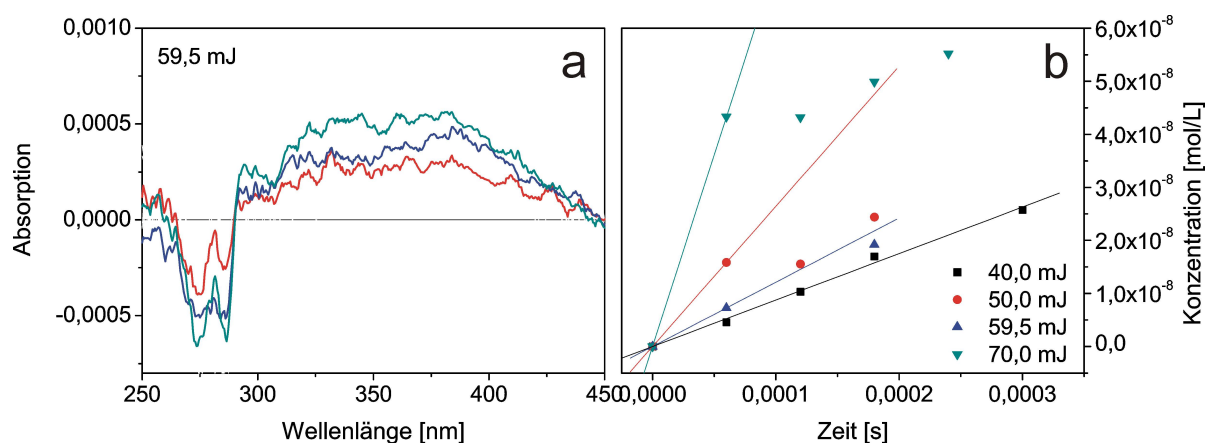


Abbildung 4.7: (a) Monomerbande bei 331 nm während der TPA von *syn*-head to tail-ND für 59,5 mJ und (b) zunehmende Monomerkonzentration bei unterschiedlichen Energien

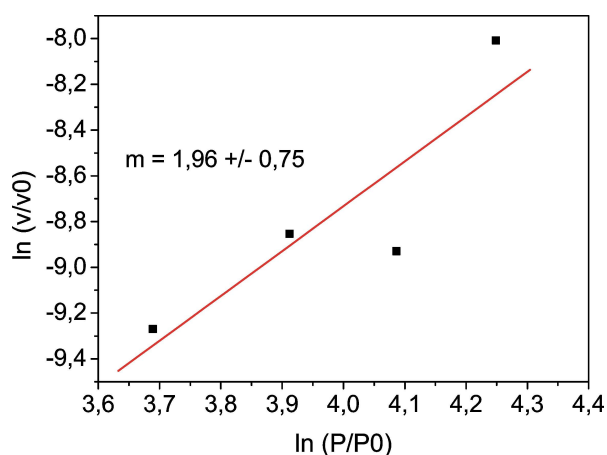


Abbildung 4.8: Doppeltlogarithmische Auftragung der Energien gegen die Anfangsgeschwindigkeiten von *syn*-head to tail-ND

Das ND ist als System für die Anbindung von Wirkstoffen über die Hydroxygruppe geeignet. ND ist dem Dicoumarin analog anwendbar, für das dieses System bereits mit verschiedenen Wirkstoffen, wie Chlorambucil, Ibuprofen, u.a. getestet wurde<sup>[36]</sup>. Im Vergleich mit Coumarinen besitzt es die Vorteile größerer chemischer Stabilität in wässrigen Medien und einen deutlich effektiveren Zwei-Photonen-Absorptions Querschnitt.

## 4.2 Entwicklung der Synthese zu Kreuzdimeren

Eine weitere Option zur Wirkstoffimmobilisierung über ein photolabiles Linkersystem ist die direkte Dimerisierung mit dem Zytotoxikum. Dies hat den Vorteil, dass bei der Freisetzung keine weiteren unnötigen Gruppen am Wirkstoff verbleiben, wie es bei den Homodimeren der Fall ist. Dies kann die Aktivität der freigesetzten Wirkstoffe nicht unerheblich beeinflussen, im Falle von Chlorambucil bedeutete dies eine Einbuße der zytotoxischen Aktivität von 90% [38]

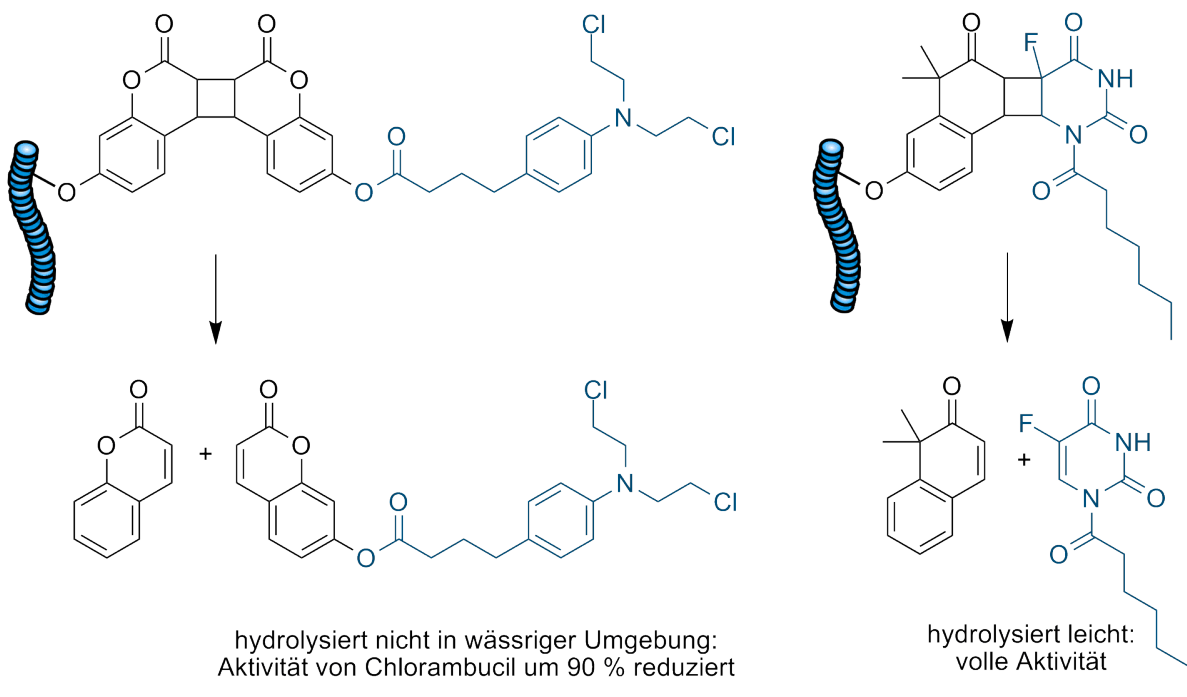


Abbildung 4.9: Vergleich der Wirkstofffreisetzung mit direkter und indirekter Wirkstoffanbindung über Dimere

Ein geeigneter Kandidat für die direkte Dimerisierung ist das Zytostatikum 5-Fluoruracil (5FU), ein Analogon der Nukleinbase Uracil, die durch die vorhandene Doppelbindung im Molekül in der Lage ist, direkt eine [2+2]-Cycloaddition einzugehen. Das 5-Fluoruracil ist in fast allen organischen Lösungsmitteln praktisch unlöslich,

weshalb es zuerst mit einer funktionellen Gruppe versehen werden musste, um die Dimerisierung und folgende chemische Reaktionen zu ermöglichen. Hierfür wurde das Heptansäurechlorid gewählt, das relativ leicht eine Amidbindung mit einem der Stickstoffatome des 5FUs eingeht. Diese kann später wieder von der Prodrug H5FU über Hydrolyse entfernt werden, da die Amidbindung hydrolyseinstabiler ist als der Ester am Monomer.

Die Bildung von Kreuzdimeren mit H5FU ist allerdings mit Coumarinen kaum möglich, da diese in überwiegendem Maße die Dimerisierung mit weiteren Coumarinen bevorzugen. Auch ein Überangebot des anderen Monomers führt zu keinen nennenswerten Ausbeuten an Kreuzdimer. Eine Möglichkeit dies zu umgehen ist die Coumarinmonomere räumlich voneinander zu trennen. Dieser Ansatz wurde bereits näher untersucht, indem das Coumarin zunächst kovalent an das Polymer gebunden und anschließend ausschließlich H5FU als Dimerisierungspartner angeboten wurde<sup>[36,77]</sup>. Diese Methode führt zwar zu einer Wirkstoffbeladung des Polymers, ist aber bei ausreichender räumlicher Trennung der Coumarine nur für geringe Beladungsmengen möglich und bietet keine genaue Analysemöglichkeit des Beladungsgrades mit H5FU, da sämtliche Analysemethoden hauptsächlich das im Überschuss vorhandene Polymer detektieren.

Eine Synthese in der zunächst der mit H5FU beladene Linker erhalten wird, der dann in definierter Menge in das Polymer einpolymerisiert wird, wäre hier vorzuziehen. Auch für die Bestimmung von photochemischen und analytischen Charakteristika des Linker-H5FU-Konjugates wäre dieser Ansatz von Vorteil.

Aus diesem Grund wurde zunächst das Naphtalenon als möglicher Partner für eine Kreuzdimerisierung mit H5FU untersucht. Die Dimerisierung wurde ebenfalls im Rayonet-Reaktor durchgeführt und lieferte bessere Ausbeuten als die Versuche mit Coumarinen. Als optimale Mischung erwies sich ein Verhältnis von 1:12 Naphtalenon:H5FU in Chloroform mit 10 % Benzophenon als Sensibilisator. Das überschüssige H5FU kann nach der Dimerisierung als 5FU zurückgewonnen und wiederverwendet werden.



### 4.2.1 Eigenschaften der Naphtalenon-Kreuzdimere

Abhängig von den verwendeten UV-Leuchtstoffröhren wurden auch hier zwei unterschiedliche 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimere (NKD-OMe) erhalten. Die Dimere wurden als *syn*-head to head-NKD-OMe und *anti*-head to tail-NKD-OMe bezüglich der Stellung der zum Cyclobutanring benachbarten Carbonylfunktionen identifiziert.

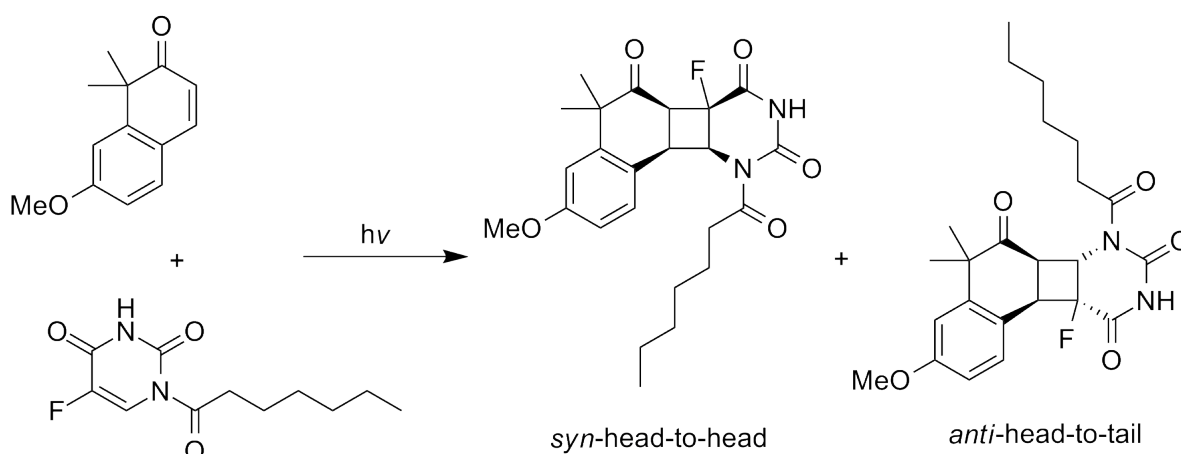


Abbildung 4.10: Konfigurationen der zwei unterschiedlichen NKD-OMe Dimere

#### Konfiguration der Dimere

Die Konfigurationen wurden über 2-D COSY- und NOESY-NMR Experimente bestimmt (s. Kap.5.1.5), da das Fluor im Cyclobutanring direkte Rückschlüsse auf die Konfiguration durch Aufspaltung der H-Atome im Ring stört. Die Bildung der unterschiedlichen Hauptprodukte wurde näher untersucht. Da die verwendeten UV-Leuchtstoffröhren unterschiedliche Intensitäten bei gleichem Lampenspektrum aufwiesen und auch die Reaktionszeiten sich entsprechend verhielten, ist davon auszugehen, dass die Produktverteilung von thermodynamischer bzw. kinetischer Kontrolle abhing.

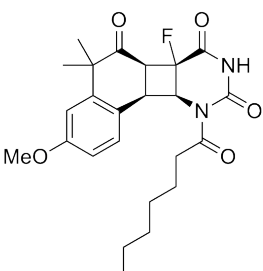
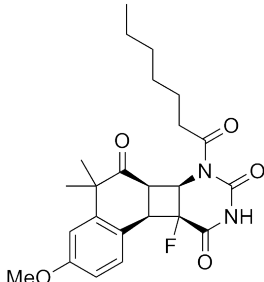
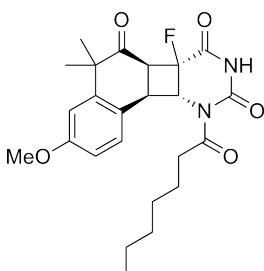
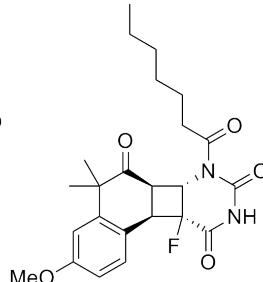
syn-head-to-head	syn-head-to-tail	anti-head-to-head	anti-head-to-tail
			
$\Delta H = 333.20 \text{ kcal/mol}$	$\Delta H = 336.62 \text{ kcal/mol}$	$\Delta H = 334.56 \text{ kcal/mol}$	$\Delta H = 334.05 \text{ kcal/mol}$

Abbildung 4.11: Enthalpien der verschiedenen möglichen Konfigurationen der NKD-OMe Dimere

Für die vier verschiedenen Dimerkonfigurationen wurden die Enthalpien mittels ORCA berechnet. Die Berechnungen wurden auf B3LYP Level mit dem TZVP Basissatz für die Bedingungen 298,15 K und 1 atm berechnet<sup>[88,89]</sup>. Die Enthalpiewerte liegen recht nahe beieinander, unterstützen aber in ihren Tendenzen die Vermutung von kinetischer und thermodynamischer Kontrolle.

- *Syn*-head to head-NKD-OMe besitzt eine niedrigere Enthalpie als das *anti*-head to tail-NKD-OMe.
- Die Reaktionszeit der Dimerisierung bis alles Monomer verbraucht ist dauert bei gleicher Ausgangsmenge bei *syn*-head to head-NKD-OMe länger als bei *anti*-head to tail-NKD-OMe.
- Die Dimerisierung von *syn*-head to head-NKD-OMe zeigt lediglich ein weiteres Dimer als Nebenprodukt, bei *anti*-head to tail-NKD-OMe sind alle drei anderen Dimere als Nebenprodukte zu finden.

Es ist folglich davon auszugehen, dass die Bildung von *syn*-head to head-NKD-OMe thermodynamischer, die von *anti*-head to tail-NKD-OMe kinetischer Kontrolle unterliegt.

### Photochemische Eigenschaften

Für beide Dimere wurden wiederum SPA und TPA Experimente durchgeführt. In diesem Fall lieferten die SPA Experimente für beide Kreuzdimere sehr ähnliche Werte.

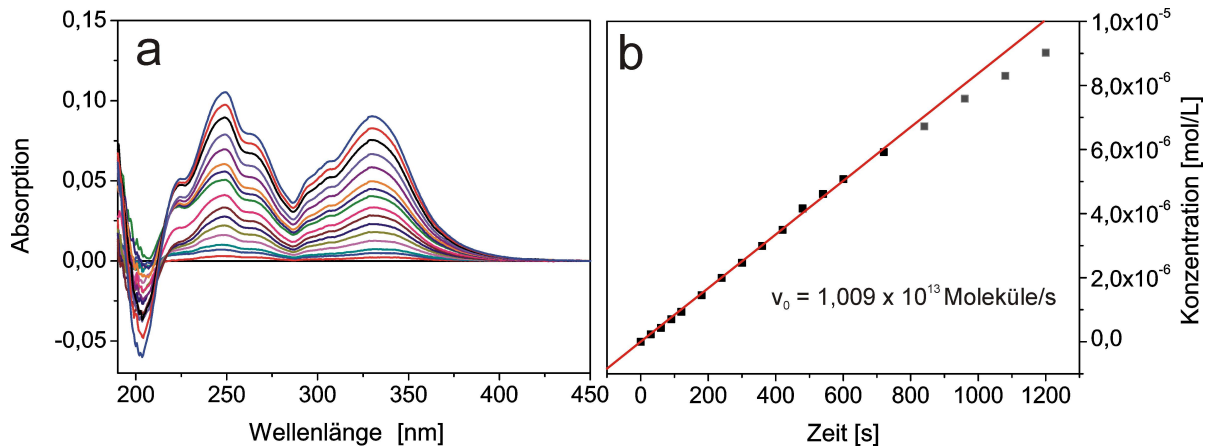


Abbildung 4.12: SPA Messungen für *syn*-head to head-NKD-OMe

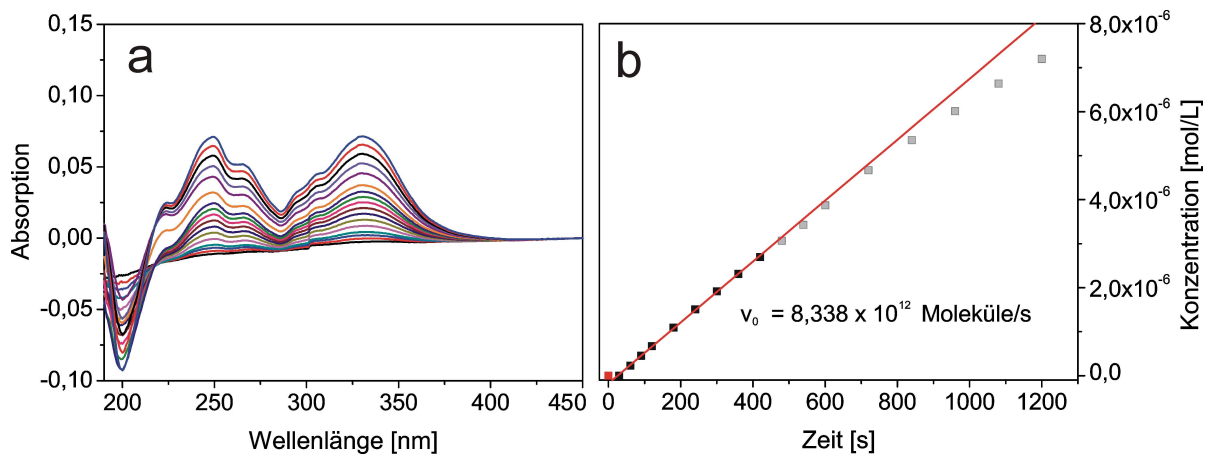


Abbildung 4.13: SPA Messungen für *anti*-head to tail-NKD-OMe

Für *syn*-head to head-NKD-OMe betrug die Anfangsgeschwindigkeit  $v_0 = 1,009 \cdot 10^{13}$  Moleküle/s, für *anti*-head to tail-NKD-OMe  $v_0 = 8,338 \cdot 10^{12}$  Moleküle/s bei Konzentrationen von 0,649 mmol/L und 0,229 mmol/L.

Die SPA Quantenausbeuten betrugen  $\phi_{SPA} = 0,01040$  für *syn*-head to head-NKD-OMe und  $\phi_{SPA} = 0,01015$  für *anti*-head to tail-NKD-OMe. Die Quantenausbeuten für beide Dimere sind in etwa gleich groß.

Die Zwei-Photonen-Absorption wurde ebenfalls für beide Dimere bei je vier unterschiedlichen Energien gemessen (s. Abb. 4.14 und 4.15)

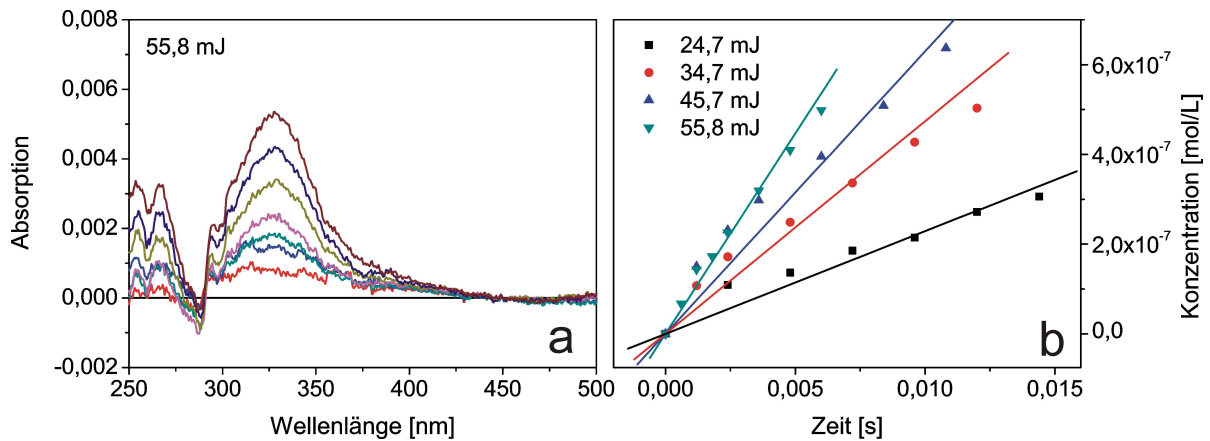
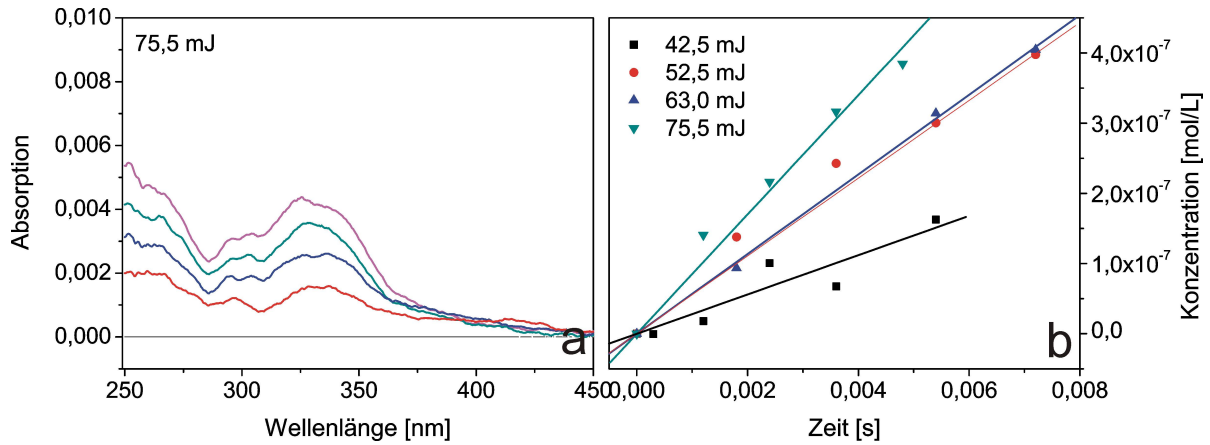
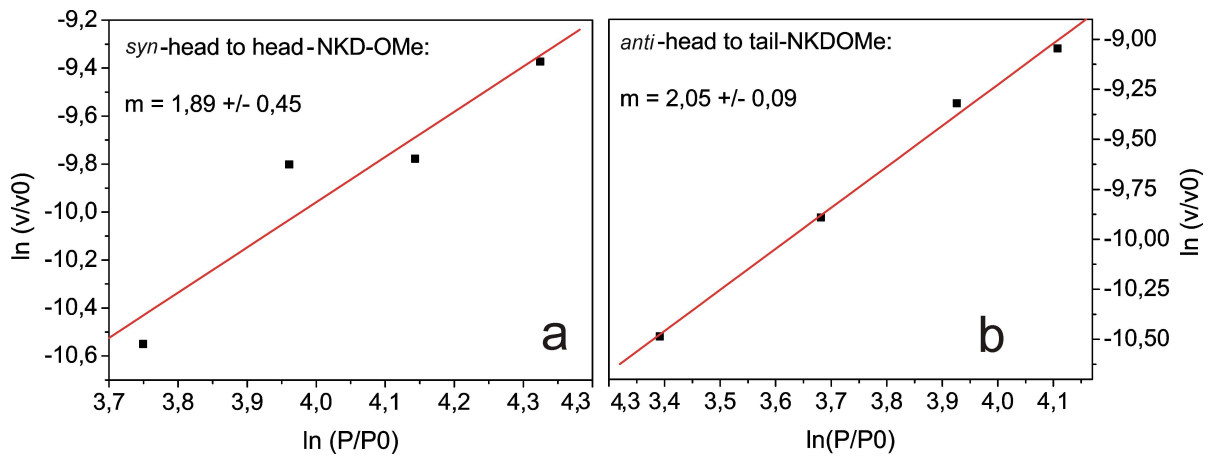


Abbildung 4.14: TPA Messungen für *syn*-head to head-NKD-OMe

Beide Dimere ließen sich erfolgreich durch Zwei-Photonen-Absorption spalten. Für beide wurde die TPA durch doppeltlogarithmische Auftragung nachgewiesen, die Steigung lag wie erwartet jeweils bei etwa 2 (s. Abb. 4.16).

Die TPA-Querschnitte wurden zu 2,5 GM für *syn*-head to head-NKD-OMe und 1,8 GM für *anti*-head to tail-NKD-OMe bestimmt.

Abbildung 4.15: TPA Messungen für *anti*-head to tail-NKD-OMeAbbildung 4.16: TPA Messungen für *anti*-head to tail-NKD-OMe

Ausgehend von dieser Möglichkeit zur Synthese mittels direkter Dimerisierung mit dem Zytostatikum wurde eine Synthese für die Herstellung von copolymerisierbaren Kreuzdimeren entwickelt.

### Copolymerisierbare Kreuzdimere

Zunächst musste am 1,1-Dimethylnaphtalenon die 7-Hydroxyfunktion zugänglich gemacht werden. Da Methoxygruppen sehr stabile Schutzgruppen darstellen, wurde diese im Monomer unter den benötigten harschen Bedingungen entfernt und durch eine deutlich mildere, die Dimerisierungsreaktion jedoch nicht beeinflussende *tert*-Butyldimethylsilylgruppe ersetzt.

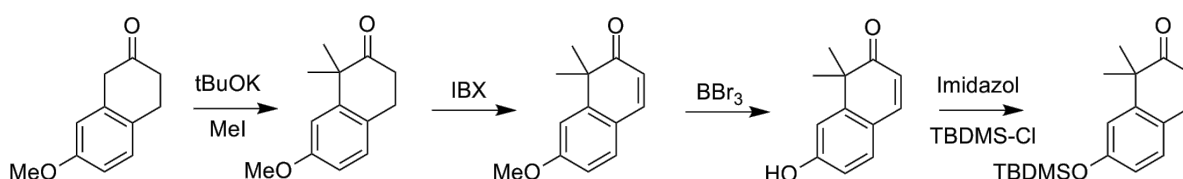


Abbildung 4.17: Naphtalenonmonomer Synthese

Die Dimerisierung gelang unter denselben Bedingungen wie die für 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon. Der Überschuss H5FU wurde durch Hydrolyse in Acetonitril-Wasser Gemisch bei 45-55 °C entfernt. Die Heptansäuregruppe hydrolysierte unter diesen Bedingungen nur in monomerem H5FU, im Dimer blieb sie stabil.

Anschließend wurde die *tert*-Butyldimethylsilylgruppe wieder entfernt, ebenfalls unter möglichst milden Bedingungen, um die Heptansäuregruppe am 5FU als Schutzgruppe zu erhalten. Mit EDC/DMAP wurde anschließend die Methacrylsäure mit der Hydroxyfunktion des Naphtalenons verestert. An dieser Stelle ist die Heptansäuregruppe am 5FU unerlässlich, da sonst auch unerwünscht Methacrylsäure am 5FU anbinden kann, was eine Freisetzung des Wirkstoffes aus dem Polymer unmöglich machen würde. Das zweite Stickstoffatom im 5FU ist deutlich unreaktiver und reagiert unter diesen Bedingungen nicht mit der Methacrylsäure.

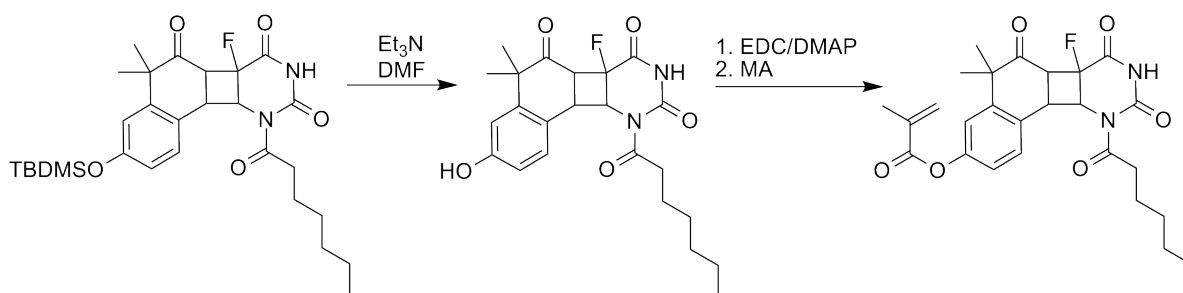


Abbildung 4.18: Anbindung der Methacrylsäure für die Copolymerisation mit HEMA/MMA

Das mit der Methacrylsäure veresterte Kreuzdimer wurde anschließend neben NMR-Experimenten mittels Electrospray-Tandem-Massenspektrometrie genauer analysiert. Dabei kann gezielt ein einzelnes Molekülion ausgewählt und durch eine Kollisionszelle geführt werden, in der das Molekülion durch Stöße mit Heliumatomen in Fragmente zerlegt wird. Die so erzeugten Fragment-Ionen werden in einer zweiten Massenanalyse detektiert.

In diesem Fall wurde das Kreuzdimer mit  $M^+ = 497,5$  fragmentiert. Da der Cyclobutanring eine der empfindlichsten Bestandteile im Dimer ist, wurde entsprechend die Monomere als Fragmente erwartet. Als Hauptprodukte der Fragmentierung erhielt man die Massen 257,6 und 127,9, die sehr gut mit den theoretisch erwarteten Werten von Naphthalenon mit veresterter Methacrylsäure ( $M = 256,3$  g/mol) und 5FU ( $M = 129,1$  g/mol) korrelieren. Die Heptansäuregruppe war unter den Fragmentierungsbedingungen ebenfalls nicht stabil, was aber bei der vergleichsweise geringen Stabilität dieser Schutzgruppe nicht verwundert.

Mit dieser Methode konnte bewiesen werden, dass die Methacrylsäure kontrolliert an die richtige Stelle im Molekül gebunden wurde, was für die Anwendung zur 5FU-Freisetzung unerlässlich ist.

## 4.3 Wirkstoffbeladenes Polymer

Anschließend wurde das so erhaltene Wirkstoff-Monomer mit HEMA/MMA zu hydrophilem Polymer copolymerisiert (s. Kap. 5.1.6). Dabei wurde zunächst ein Polymer durch thermische Polymerisation hergestellt, was sich jedoch als ungeeignet erwies, da nach der Polymerisation zunächst unvorhergesehen sämtliches H5FU freigesetzt war. Die Ursachen für diesen unerwarteten Effekt sollen in Kap.4.4 noch genauer untersucht werden.

Als alternative Polymerisierungsreaktion wurde daraufhin mit photochemisch induzierter Polymerisation gearbeitet. Das so erhaltene Material wurde als optisch klar mit guter Transparenz und ohne Inhomogenitäten<sup>[90]</sup> bewertet.



Abbildung 4.19: Wirkstoffbeladene Polymerronden mit NKD

Aus der Polymerplatte wurden zunächst Ronden geschnitten und aus diesen wiederum Intraocularlinsen für Testzwecke durch die Fa. Dr. Schmidt Intraocularlinsen angefertigt. Diese Linsen besaßen einen Radius von 6 mm mit blauen PMMA-Haptiken die eingeklebt wurden. Jede Linse wog etwa 20 mg was einem Gehalt von 75,9  $\mu\text{g}$  5FU entspricht.



### 4.3.1 Analytik der Freisetzung aus Polymermaterial

Zunächst wurden die Linsen in Wasser zum Hydrogel quellen gelassen. Anschließend wurde das Material in Wasser bei 37 °C inkubiert, um sicherzustellen, dass alle Komponenten bei diesen Temperaturen stabil waren. Die Wasserphase wurde durch UV/Vis Messungen kontrolliert, es konnte nichts detektiert werden. Anschließend wurde eine Linse 5 min mit der UV-C Lampe bestrahlt und wiederum die Wasserphase kontrolliert. Bereits nach wenigen Sekunden konnte eine Zunahme der Absorption im Bereich um 266 nm detektiert werden, das der charakteristischen Bande von freigesetztem 5FU entspricht.

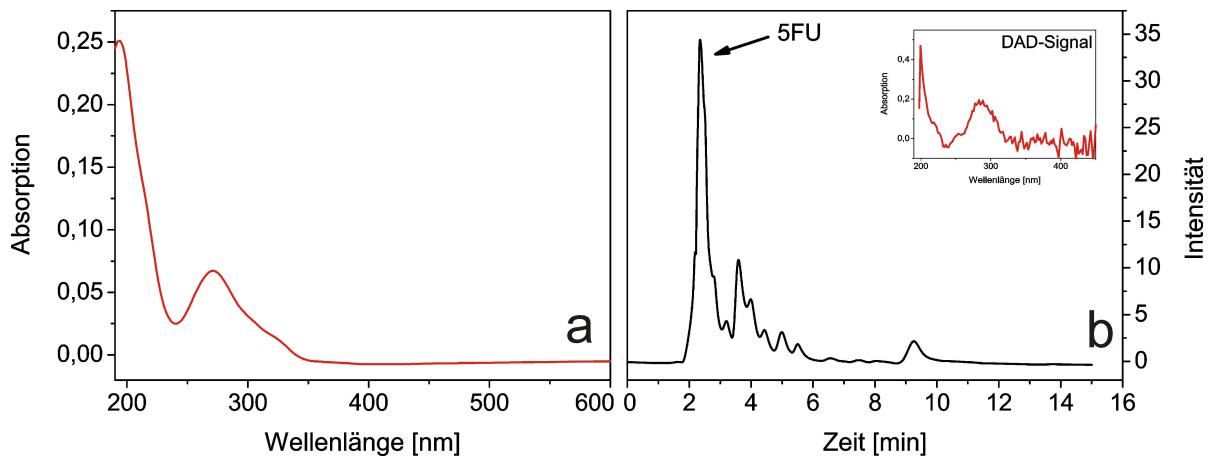


Abbildung 4.20: (a) UV/Vis-Spektrum der Wasserphase und (b) Chromatogramm der Wasserphase mit DAD Signal des 5FU Peaks

Die Linse wurde noch einen Tag inkubiert und anschließend wurde die Wasserphase eingengt, der Überrest in Acetonitril gelöst und in der HPLC (3:1 Acetonitril:Wasser) analysiert. Es konnte in der Probe im wesentlichen nur ein einziges Signal detektiert werden, welches in Retentionszeit und DAD Signal eindeutig 5FU entspricht.

Nachdem die Funktionalität des wirkstoffbeladenen Polymers nachgewiesen war, wurden weitere Testlinsen hinsichtlich der Diffusionsgeschwindigkeit aus dem Polymer und der Wiederholbarkeit der Freisetzung untersucht.

### Diffusion von 5FU aus dem Polymer

Für die Anwendung als Drug-Delivery-System ist die Untersuchung der Diffusionsgeschwindigkeit des Wirkstoffes aus dem Polymermaterial von wirkungstechnischer Bedeutung. Für die Behandlung der Epithelzellen auf der Linse ist es vorteilhaft, eine relativ schnelle und hohe Initialkonzentration an Zytostatikum und keine langsame und gleichmäßige Gabe des Wirkstoffes zu erreichen.

Da die Implantation einer Linse erst erfolgt, wenn das Polymer ausreichend in Wasser gequollen ist, wird auch die Freisetzung in einem vollständigen Hydrogel erfolgen. In diesem Fall ist Wirkstofffreisetzungsprofil ein rein diffusionsgesteuerter Prozess und gehorcht den Fick'schen Gesetzen. Das Freisetzungsprofil beginnt in diesem Fall mit einem sogenannten Burst-Effekt, gefolgt von einer langsameren Rate des verbleibenden Wirkstoffes. Dies entspricht dem gewünschten Effekt für diese Anwendung.<sup>[58,59]</sup>

Zur Untersuchung der Diffusion wurde eine Linse in eine Linsenhalterung in einer 4-Fenster-Quarzglasküvette eingebracht. Die Linse wurde über ihre Haptiken an Ort und Stelle gehalten und von entionisiertem Wasser als Medium umgeben. In die eine Richtung kann die Linse belichtet und mittels UV/Vis Spektrometrie untersucht werden, in die 90 ° gedrehte Richtung kann die Wasserphase gemessen werden. Da der Spalt eine Breite von 1 mm besitzt und mittig durch die Küvette geht, wird die Diffusionsgeschwindigkeit in etwa 3 mm Entfernung der Linse aufgenommen. Die Bestrahlung erfolgte mit der UV-C Lampe bei 266 nm für 60 s, der Extinktionskoeffizient für die Bestimmung der 5FU-Konzentration beträgt  $\epsilon_{266} = 7070 \frac{\text{L}}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$ <sup>[91]</sup>.

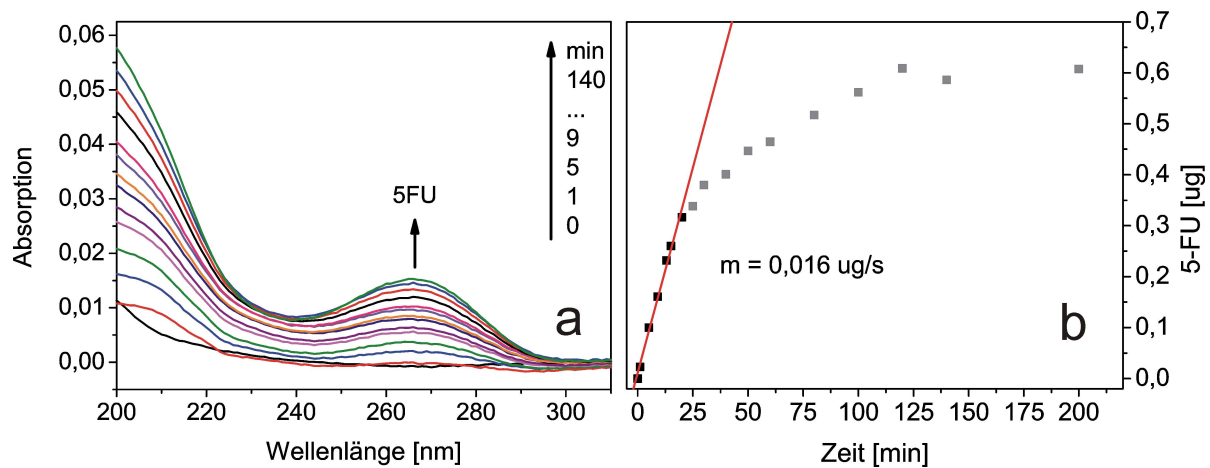


Abbildung 4.21: Diffusion des 5FUs aus dem Polymermaterial das 60 s bestrahlt wurde (a) Zunehmende Bande an 5FU, gemessen nach bestimmten Zeitabständen (b) Bestimmung der Diffusionsgeschwindigkeit

Wie in Abb.4.21 zu sehen ist, zeigt sich das erwartete Profil eines diffusionsgesteuerten Prozesses mit hoher Initialkonzentration. Die errechnete Diffusionsgeschwindigkeit betrug  $v_{\text{Diff.}} = 0,016 \mu\text{g/s}$ . Nach nur 5 min waren bereits 10% der Gesamtmenge an freigesetztem Wirkstoff in das umgebende Medium diffundiert, nach 60 min 50%. Insgesamt wurden nach einem Tag eine Gesamtmenge von  $0,6 \mu\text{g}$  auf ein Volumen von 1 mL gemessen. Die  $\text{LD}_{50}$ -Dosis von  $0,58 \mu\text{g/mL}$  <sup>[70]</sup> wurde damit erreicht. Wo exakt der Wert der effektiven Dosis liegt ist für die Anwendung beim Nachstar noch nicht bekannt, darum kann die Menge der freigesetzten Initialdosis vorerst noch nicht genauer beurteilt werden.

### Untersuchung des Linsenmaterials während der Freisetzung

Während der Diffusionsmessung wurde im 90°-Winkel zu den Messungen der Wasserphase auch die Linse selbst mittels UV/Vis Spektroskopie analysiert. Sobald das 5FU über die [2+2]-Cycloreversion abgespalten wird und aus der Polymermatrix diffundiert, sollte die Bande der Carbonylgruppe bei 331 nm der kovalent an das Polymer gebundenen Naphtalenonmoleküle, die nun wieder über die freigewordenen Doppelbindung in Konjugation mit dem aromatischen Ring steht, detektierbar werden. In Abb.4.22 sind die Messungen des Linsenmaterials während der Freisetzung abgebildet.

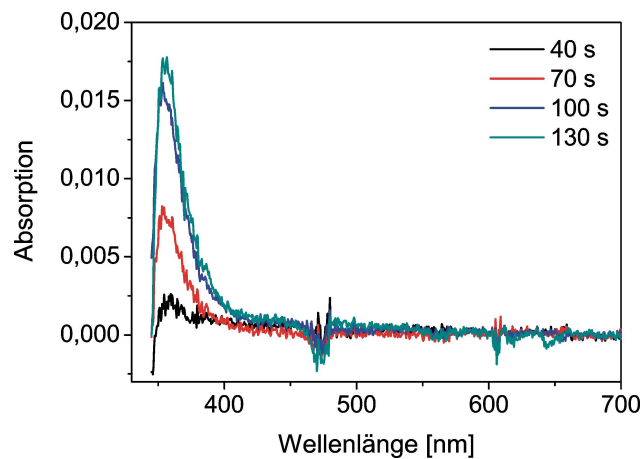


Abbildung 4.22: UV/Vis-Spektrum einer Linse während des Freisetzungsprozesses

Die beginnende Bande bei 331 nm ist deutlich zu sehen. Allerdings ist das Polymer ab etwa 350 nm nicht mehr optisch durchlässig, so dass nur der Beginn der Bande detektiert werden kann, nicht ihr Maximum bei 331 nm.

Die Zunahme der Absorption mit der Zeit ist jedoch gut zu erkennen und zeigt dass das Naphtalenonmonomer nach der Freisetzung intakt und kovalent gebunden zurückbleibt.

### Wiederholbarkeit der Wirkstofffreisetzung

Die Wiederholbarkeit der Freisetzung ist für die Anwendung als nicht-invasives Drug Delivery System wichtig, da bei der ersten Behandlung des Nachstars sehr wahrscheinlich nicht alle Epithelzellen in ihrem Wachstum gehemmt wurden und die Bestrahlung darum wiederholt werden muss. Auch kann nach einmaligem Auftreten des Nachstars sich dieser nach einigen Jahren neu entwickeln und auch dann die Indikation einer weiteren Freisetzung bestehen.

Ein Stück des Linsenmaterials von 21,6 mg wurde hierfür in 2 mL entionisiertem Wasser inkubiert und im Abstand von einer Woche insgesamt 11mal für jeweils 10 oder 20 min mit der UV-C Lampe bestrahlt. Das Material wurde daraufhin für eine Woche in der Wasserphase inkubiert, um sicherzugehen, dass auch die gesamte freigesetzte Menge H5FU aus dem Material diffundierte und zu 5FU hydrolysierte. Die Wasserphase wurde mittels UV/Vis Messungen untersucht und durch frisches entionisiertes Wasser für die nächste Stufe ersetzt.

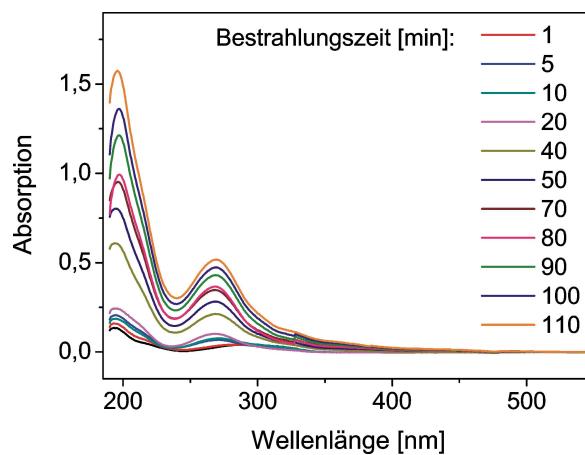


Abbildung 4.23: UV/Vis-Spektrum der Wasserphasen nach verschiedenen aufeinanderfolgenden Bestrahlungen

Die Menge an freigesetzten 5FU wurde nach Lambert-Beer berechnet. Es wurden in den ersten 5 Bestrahlungen jeweils deutlich mehr als die LD<sub>50</sub>-Dosis von 0,58 µg/mL<sup>[70]</sup> erhalten und insgesamt 22,6 µg freigesetzt.

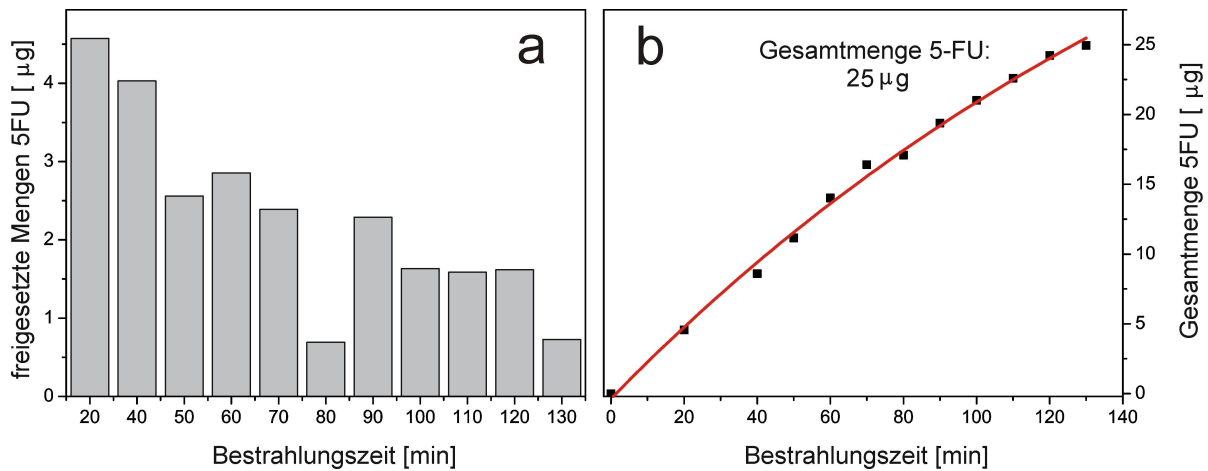


Abbildung 4.24: (a) UV/Vis-Spektrum der Wasserphasen nach dem jeweiligen Bestrahlen, (b) Chromatogramm der Wasserphase mit DAD Signal des 5FU Peaks

Insgesamt besaß die Polymerplatte einen Beladungsgrad von 1,5% Wirkstoff-Linker-Konjugat, was einer Absolutmenge von 75,9 µg 5FU in 20 mg Material entspricht. Es wurden also mit den ersten 11 Bestrahlungen 28% der Gesamtmenge an 5FU freigesetzt.

Da die LD<sub>50</sub>-Dosis bereits sehr niedrig liegt, sollte für die Anwendung die Bestrahlungsdosis für die ersten Behandlungen entsprechend reduziert werden, damit nicht zuviel Zytostatikum im Auge freigesetzt wird. Das Volumen des Kapselsacks beträgt etwa 100 µL, die LD<sub>50</sub>-Dosis wird also auch entsprechend früher erreicht. Dies wirkt sich wiederum positiv auf die Wiederholbarkeit aus, da auch bei späteren Bestrahlungseinheiten noch mehr Wirkstoff in der Linse vorhanden ist. Ob es sinnvoll ist eher mehr oder weniger Wirkstoff in das Polymermaterial einzubringen, müssen medizinische Tests anhand der verwendeten Bestrahlungsgeräte erst noch zeigen. Eine

höhere Beladung hätte den Vorteil, dass weniger lange bestrahlt werden muss, um die gewünschte Dosis zu erreichen, allerdings muss beachtet werden, dass größere Mengen Drug-Linker-Konjugat die optischen Eigenschaften des Polymermaterials negativ beeinflussen könnten.

### Freisetzung aus einem Jahr alten Material

Es wurde weiterhin überprüft, ob das Wirkstoffbeladene Material auch nach längerer Zeit noch einsatzfähig ist. Dies ist wichtig, da zum einen Medizinprodukte nach Produktion, Verpackung, Sterilisation und Lagerung erst bei Bedarf angewendet werden und, auch wenn die wirkstoffbeladene IOL im Auge eingesetzt wurde, die Linse wahrscheinlich noch einige Zeit warten muss, bis eine Behandlung des Nachstars indiziert wird.

Hierfür wurde eine ein Jahr alte Linse in Wasser inkubiert und mit der UV-C Lampe 1 min bestrahlt. Nach kurzer Wartezeit wurde die Wasserphase mittels UV/Vis Spektrometrie nach verschiedenen Zeiten auf die Zunahme der Bande bei 266 nm vom 5FU untersucht (Abb. 4.25) und es wurde wie in Kap.4.3.1 die Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  berechnet.

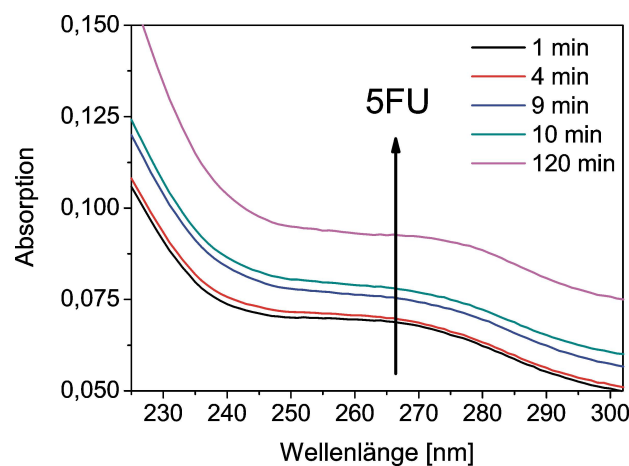


Abbildung 4.25: UV/Vis-Spektren der Wasserphase nach der Bestrahlung einer 1 Jahr alten Linse.

Die Geschwindigkeit betrug in diesem Experiment  $v_0 = 0,019 \mu\text{g/s}$ . Damit liegt der Wert trotz der kurzen Messreihe sehr gut in der Größenordnung der in Kap.4.3.1 bestimmten Diffusionsgeschwindigkeit von  $v_0 = 0,016 \mu\text{g/s}$ . Es kann also davon ausgegangen werden, dass das Material auch nach einem Jahr noch voll funktionsfähig ist.

### TPA-Freisetzung aus Polymermaterial

Entsprechend der SPA-Freisetzung wurde auch die Zwei-Photonen induzierte Freisetzung getestet. Hierzu wurde eine weitere Linse in der Linsenhalterung der Vier-Fenster Quarzglasküvette befestigt und mit 10 000 Pulsen der Energie 90,5 mJ bestrahlt. Die Diffusion aus dem Polymer in die Wasserphase wurde wiederum spektrometrisch im  $90^\circ$ -Winkel beobachtet.

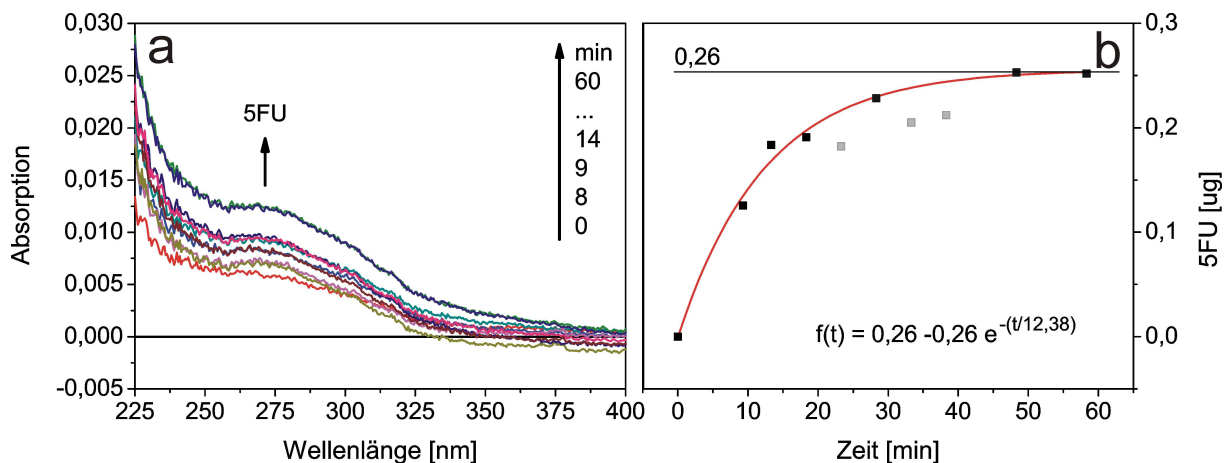


Abbildung 4.26: TPA-Freisetzung (a) UV/Vis-Spektren der Wasserphase nach der Bestrahlung und (b) Menge an freigesetztem 5FU mit der Zeit.

Der Beginn der Freisetzung wurde bei 9,3 min gemessen, da die Bestrahlung mit 10 000 Pulsen bei 20 Hz 8,3 min in Anspruch nahm. Der Verlauf der Diffusion folgte dem erwarteten Verlauf einer beschränkten exponentiellen Wachstumskurve. Die angestrebte Sättigungsgrenze  $S$  lag bei 0,26  $\mu\text{g}$ . Damit wurden durch die erste Bestrahlung



bei einer Gesamtbeladung von 75,9  $\mu\text{g}$  5FU in einer 20 mg Linse 0,3 % der Gesamtmenge freigesetzt. Bezogen auf ein Kapselsackvolumen von etwa 100  $\mu\text{L}$  wurde die  $\text{LD}_{50}$ -Dosis hier um das 4,5fache überschritten, die in diesem Falle eine Absolutmenge von 0,058  $\mu\text{g}$  5FU beträgt. Für die Anwendung im Auge empfiehlt sich daher eine kürzere oder energieärmere Bestrahlung.

## 4.4 Thermische [2+2]-Cycloreversion

Wie in Kap.4.3 bereits erwähnt wurde, zeigte sich bei der thermischen Polymerisation eine unerwartete Freisetzung des 5FUs aus dem Material. Zunächst wurde angenommen, dass sich das Wirkstoff-Linker-Konjugat bei den Temperaturen von 120-140 °C während der Polymerisation undefiniert zersetzt hatte. Genauere Analysen der Wasserphase mittels UV/Vis und HPLC zeigten jedoch, dass ausschließlich 5FU und keine weiteren Bestandteile des Polymers freigesetzt wurden. Daraufhin wurde eine Probe des reinen Naphtalenon-Kreuzdimers in Acetonitril gelöst, bei Temperaturen von 50-100 °C in 10 °C Schritten jeweils 1 Stunde inkubiert und anschließend mittels HPLC genauer untersucht.

Es zeigte sich, dass ab 80 °C eine Spaltung des NKD-OMe mit zunehmender Geschwindigkeit einsetzte, bei der die beiden Monomere Naphtalenon und H5FU, sowie zwei weitere unbekannte Produkte erhalten wurden. Die Zusammensetzung der vier Produkte der Proben zeigte Zeit- und Temperaturabhängigkeit, wodurch davon ausgegangen werden kann, dass eine definierte chemische Reaktion stattgefunden haben muss, keine undefinierte Zersetzung.

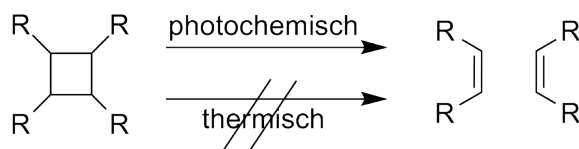


Abbildung 4.27: Erlaubter und verbotener Reaktionsweg für [2+2]-Cycloreversionen

Nach den Regeln von Woodward und Hoffmann ist eine [2+2]-Cycloreversion ausschließlich photochemische, nicht jedoch thermisch erlaubt <sup>[43,44]</sup> (s.Kap. 2.1.3). Derartige „verbotene“ Reaktionen wurden bereits kurz nach Publikation der Woodward-Hoffmann Regeln beobachtet<sup>[92–94]</sup>, der Reaktionsmechanismus konnte jedoch bisher nicht aufgeklärt werden<sup>[95–97]</sup>. Daher wurden weitere Untersuchungen unternommen, um den Mechanismus näher zu beleuchten, da eine derartige Instabilität des Wirkstoff-Linker-Konjugats für die Anwendung nicht wünschenswert ist.

#### 4.4.1 Konfiguration der Dimere und Identifikation der Produkte

Für die Untersuchung der thermischen Spaltung wurden die beiden in Kap.4.2.1 bereits charakterisierten NKD-OMe Dimere herangezogen. Beide gingen ab 80 °C eine Abbaureaktion ein, wobei es jedoch Unterschiede zwischen den beiden Konfigurationsisomeren gab.

Die Reaktionen wurden in regelmäßigen Abständen mittels analytischer HPLC überprüft. Beim *anti*-head to tail-NKD-OMe entstanden exakt die beiden Monomere, Naphthalenon und H5FU, als Produkte, beim *syn*-head to head-NKD-OMe ergaben sich diese beiden Produkte plus zwei weitere unbekannte Produkte.

Ein größerer Ansatz von 200 mg des *syn*-head to head-NKD-OMe wurde daraufhin für mehrere Stunden bei 140 °C inkubiert, bis alles Dimer reagiert hatte und die Produkte 1-4 wurden anschließend mittels präparativer HPLC isoliert und über NMR strukturell identifiziert (s. Kap. 5.1.5).

Während der Reaktion entstand unabhängig der Bildung der übrigen Produkte immer gleichmäßig 5FU (1). Je nach Lösungsmittel variierten die Anteile an 2-4 für *syn*-head to head-NKD-OMe. Fand die Reaktion in einem aprotischen Lösungsmittel wie Chloroform oder ganz ohne Lösungsmittel statt, so wurde keine Bildung von 1,1-Dimethyltetralon (4) beobachtet, sondern nur die von 3-(4-Methoxy-2-(prop-1-en-2-yl)phenyl)acrylaldehyd (2) und 1,1-Dimethylnaphthalenon (3). In Methanol oder Acetonitril wurde zusätzlich (4) gebildet. Die Produkte (2) und (3) standen immer in ei-

nem ähnlichen Verhältnis zueinander, wobei stets mehr (2) als (3) gebildet wurde, wohingegen bei *anti*-head to tail-NKD-OMe unabhängig vom Lösungsmittel ausschließlich (1) und (3) entstand.

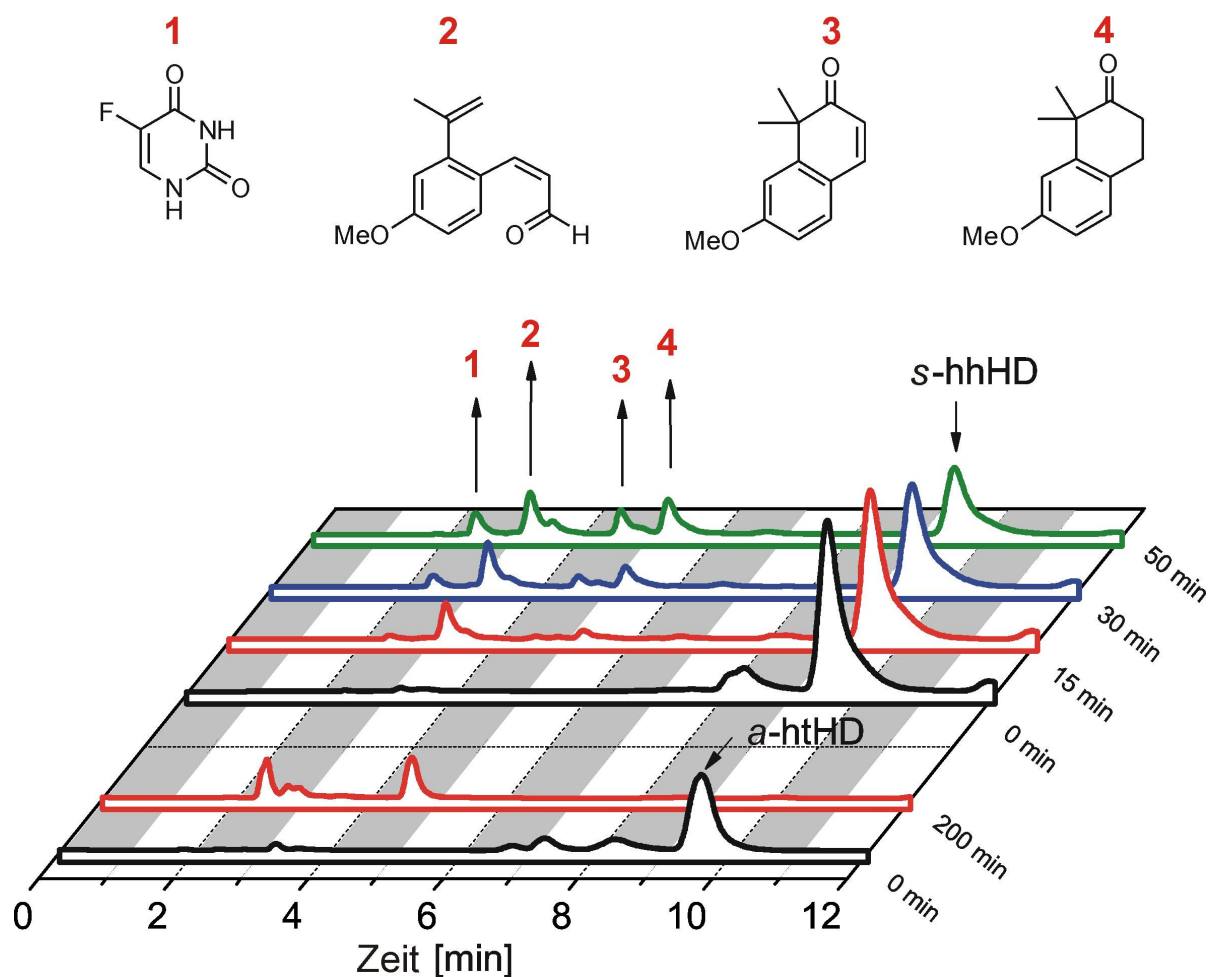


Abbildung 4.28: HPLC-Chromatogramme der Spaltungsreaktion in Acetonitril zu verschiedenen Zeiten und Strukturen der Produkte 1-4

### 4.4.2 Bestimmung der Aktivierungsenergie

Für die strukturell interessantere Reaktion des *syn*-head to head-NKD-OMe wurde die Aktivierungsenergie  $E_A$  nach der Methode von Arrhenius bestimmt. Da die thermische [2+2]-Cycloreversion unabhängig vom Vorhandensein von Lösungsmitteln reagiert, kann davon ausgegangen werden dass die Reaktion erster Ordnung ist. Die Geschwindigkeitskonstante  $k$  der Reaktion hängt vom Verhältnis der Aktivierungsenergie  $E_A$  zur thermischen Energie der Teilchen  $R \cdot T$  ab. Die Arrheniusgleichung drückt dies durch folgende Exponentialfunktion aus:

$$k = k_0 \cdot e^{-\frac{E_A}{R \cdot T}} \quad (4.1)$$

Zur Bestimmung der Aktivierungsenergie wurden die Geschwindigkeitskonstanten bei verschiedenen Temperaturen gemessen und in die logarithmierte Arrheniusgleichung eingesetzt. Danach ergibt sich die Aktivierungsenergie aus der Steigung  $m$  der Geraden.

$$\ln(k) = \ln(k_0) - \frac{E_A}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (4.2)$$

$$E_A = -m \cdot R \quad (4.3)$$

Es wurde für fünf verschiedene Temperaturen von 100 – 140 °C je eine Messreihe aufgenommen. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Proben stets im Dunkeln gehandhabt wurden bzw. mit Alufolie umwickelt waren, um photochemisch induzierte Spaltungsreaktionen ausschließen zu können.

Aus der Steigung des logarithmierten Arrhenius-Plots ließ sich die Aktivierungsenergie zu  $E_A = 12,9$  kcal/mol bestimmen. Dieser Wert ist ungewöhnlich niedrig für ein bei Raumtemperatur stabiles Molekül.

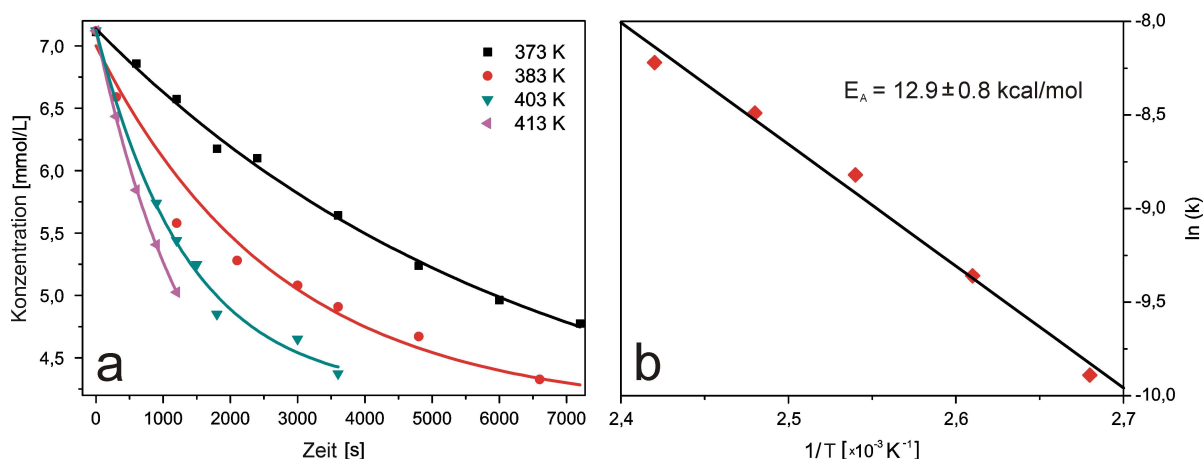


Abbildung 4.29: (a) Verlauf der Konzentrationsabnahme an NKD-OMe während der thermischen Spaltungsreaktion (b) logarithmierter Arrhenius Plot zur Bestimmung der Aktivierungsenergie  $E_A$

Ähnliche Experimente mit eher instabileren Molekülen wie Dibenzol oder Cyclobutan besitzen deutlich höhere Aktivierungsenergien von 26,8 kcal/mol<sup>[97]</sup> für Dibenzol bzw. 62,5 kcal/mol<sup>[95,98]</sup> für Cyclobutan. Daher liegt die Vermutung nahe, dass noch während der Reaktion auftretende Effekte zu einer deutlichen Stabilisierung und damit zu einer Senkung der für die Reaktion nötigen Energie beitragen.

Die Aktivierungsentropie für diese Reaktion wurde nach der Eyring-Gleichung berechnet:

$$k = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot e^{\frac{-\Delta H^\ddagger}{RT}} \cdot e^{\frac{-\Delta S^\ddagger}{R}} \quad (4.4)$$

Durch Logarithmieren und Umformen der Gleichung erhält man die lineare Form der Eyring-Gleichung.

$$\ln(k) = \ln\left(\frac{k_B T}{h}\right) - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \quad (4.5)$$

Die Auftragung  $\ln(k/T)$  gegen  $1/T$  liefert über den y-Achsen-Abschnitt, der  $\ln(k_0)$  aus der Arrheniusgleichung entspricht, die Aktivierungsentropie.

$$y(x=0) = \ln(k_0) = \ln\left(\frac{k_B}{h}\right) + \frac{-\Delta S^\ddagger}{R} \quad (4.6)$$

$$\Delta S^\ddagger = (\ln(A) - \ln\left(\frac{k_B}{h}\right)) \cdot R \quad (4.7)$$

Die Aktivierungsentropie wurde zu  $S^\ddagger = -32,1 \text{ e.u.} \pm 4,5 \text{ e.u.}$  berechnet. Für Cyclobutan liegen die Vergleichswerte bei -2,7 bis 1,6 e.u.<sup>[95,98]</sup>, für Dibenzol bei -2,2 bis 0,9 e.u.<sup>[97]</sup>. Deutlich negative Werte für die Aktivierungsentropie deuten auf eine relativ hohe Ordnung im Übergangszustand hin. Dies findet man grundsätzlich, wenn auf dem Weg zum Übergangszustand Freiheitsgrade eingefroren werden. Auch können solvatisierende Effekte des Lösungsmittels eine Rolle bei der Ordnung spielen.

Grundsätzlich werden für einfache Ring-Abbau-Reaktionen zu mehreren nicht-zyklischen Produkten leicht positive Aktivierungsentropien erwartet. Ist im Übergangszustand jedoch immernoch der zyklische Charakter der Verbindung stark ausgeprägt, kann die Aktivierungsentropie negativ werden. In diesem Fall besteht eine Abhängigkeit der Aktivierungsentropie davon, wie weit die Cyclisierung im Übergangszustand schon aufgehoben ist. In dem vorliegenden Fall könnte die Ordnung des Übergangszustandes also die Erklärung für die Stabilität der Dimere bei Normalbedingungen sein, obwohl die Reaktion schon bei geringer Aktivierungsenergie abläuft.

### 4.4.3 Radikalfängerreaktion und ESR-Experimente

Da der Reaktionsmechanismus nicht über die konzertierte [2+2]-Cycloreversion nach Woodward-Hoffmann erklärt werden kann, lag die Vermutung nahe, dass es sich um eine radikalische Reaktion handelt<sup>[95,99,100]</sup>. Der Cyclobutanring könnte über die Bildung eines ersten Biradikals den ersten symmetrischen Bindungsbruch eingehen. Die Lebensdauer des Biradikals müsste zumindest solange andauern, dass auch ein zweiter Bindungsbruch am Cyclobutanring in unmittelbarer Nähe stattfindet und die beiden Monomere wieder erhalten werden. Aus der niedrigen Aktivierungsenergie ist außerdem zu vermuten, dass dieser erste biradikalische Übergangszustand eine deutliche Stabilisierung erfahren muss, da er den entscheidenden Schritt darstellt, ob sich das Biradikal wieder zum Dimer schließt oder ob ein zweites Biradikal entsteht und zwei Monomere entstehen.

Bisherige Literatur zu dieser Problemstellung ebenfalls auch von dem Ansatz eine radikalischen Mechanismus aus<sup>[95,101–105]</sup>, allerdings konnten die radikalischen Übergangszustände bisher nicht experimentell bewiesen werden<sup>[101,106,107]</sup>. Als Nachweisexperimente bieten sich hier ESR oder Radikalfängerreaktionen an.

#### Radikalische Inhibitionsreaktion mit Hydrochinon

Es wurde zunächst die Reaktion mit Hydrochinon als Inhibitor durchgeführt. Hydrochinon ist in der Lage als Radikalfänger durch Reaktion mit dem entstandenen Radikal über Oxidation zu Chinonaddukten zu wirken. Der analytische Nachweis der Adduktbildung kann anschließend als Beweis für die Bildung von Radikalen gewertet werden.

Für die Experimente mit NKD-OMe wurde jeweils eines der beiden Konfigurationsisomere in Methanol gelöst, mit einer Spatelspitze Hydrochinon versehen und für 5 Stunden bei 140 °C inkubiert. Anschließend wurde die Probe in der HPLC und der LCMS analysiert.

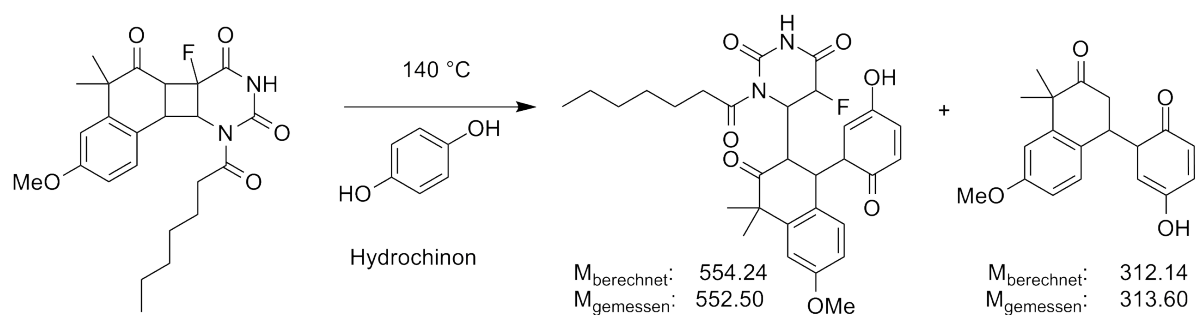


Abbildung 4.30: hch

Bei beiden Dimeren zeigten sich zwei neue Peaks im Chromatogramm, deren Massen zu  $M^+ = 552,50$  und  $M^+ = 312,60$  bestimmt wurden.

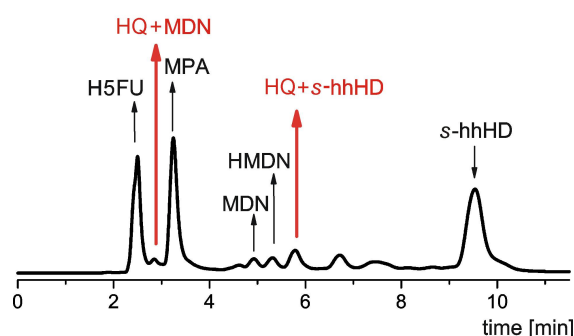


Abbildung 4.31: Chromatogramm der Radikalfängerexperimente mit Hydrochinon von *syn*-head to head-NKD-OMe

Die Ergebnisse korrelieren gut mit den zu erwartenden für eine Radikalreaktion. Das Addukt an Dimer mit dem Chinon besitzt eine theoretische Masse von 554,24 und das Addukt an das Naphtalenon 312,14. Es wurde sowohl Adduktbildung von Dimer mit Hydrochinon nachgewiesen, das im ersten Bindungsbruch entstanden sein muss, als auch Adduktbildung mit einem der Monomere, die sowohl während des ersten wie auch während des zweiten Bindungsbruch gebildet worden sein können. Interessanterweise gingen keine Produkte mit dem H5FU und Hydrochinon aus der Reaktion hervor.



Es ist davon auszugehen, dass das Radikal am Fluor weniger reaktiv ist, als am Naphthalenon, wo der Radikalfänger stark bevorzugt reagierte. Die Vermutung liegt nahe, dass das Radikal im H5FU besonders stabilisiert werden kann. Zum einen besteht die Möglichkeit der Stabilisierung des Radikals durch Resonanz, wie sie im Uracil bereits bekannt ist<sup>[108]</sup>, zum anderen ist das Fluor in  $\alpha$ -Position in der Lage das ungepaarte Elektron über  $3e^-$ -2 Zentren-Bindung zu stabilisieren<sup>[109]</sup>.

### ESR-Experimente

Für die ESR-Experimente wurde die thermische [2+2]-Cycloreversionsreaktion direkt im ESR durchgeführt. Dazu wurde eine mit Formiergas betriebene Heizspirale an der Probenhalterung bzw. dem ESR-Röhrchen angebracht, um die Reaktion direkt analysieren zu können. Die Erhöhung der Temperatur einer solchen Reaktion hat zwar den Vorteil, dass mehr und schneller Radikale gebildet werden, gleichzeitig bringt sie jedoch den Nachteil mit sich, dass sich die Lebenszeit der Radikale deutlich verkürzt. Um die Nachweisgrenze von  $10^{14}$  Spins zu überschreiten musste daher das bestmögliche Verhältnis zwischen möglichst niedriger Konzentration für geringe Linienverbreiterung und besserer Feinstruktur sowie ausreichend hoher Konzentration für die Nachweisgrenze gefunden werden. Leider zeigte sich, dass nur die höchstkonzentrierten Proben ausreichende Mengen zur Signalbildung im ESR während der Reaktion zeigten, was durch die resultierende Linienverbreiterung zum Verlust jeglicher Feinstruktur führte.

Das *anti*-head to tail-NKD-OMe wurde aufgrund seiner öligen Konsistenz als konzentrierte Lösung in Acetonitril gemessen (120 mg in 0,2 mL,  $c = 1,35$  mol/L), das *syn*-head to head-NKD-OMe direkt als Feststoff (130 mg). Die flüssige Probe wurde gründlich mit Argon entgast, in flüssigem Stickstoff eingefroren und das Röhrchen auf etwa 14 cm Höhe abgeschmolzen, um Verluste an Lösung während der Messung zu vermeiden. Die Feststoffprobe wurde im Röhrchen im Hochvakuum getrocknet, mit Argon belüftet und gut verschlossen.

Beide Proben wurden über die Messzeit von Raumtemperatur ausgehend bis auf etwa 140 °C erhitzt und wieder abkühlen gelassen. Dabei konnte bei beiden Proben ein eindeutiges Signal detektiert werden, welches die radikalische Natur der Reaktion beweist.

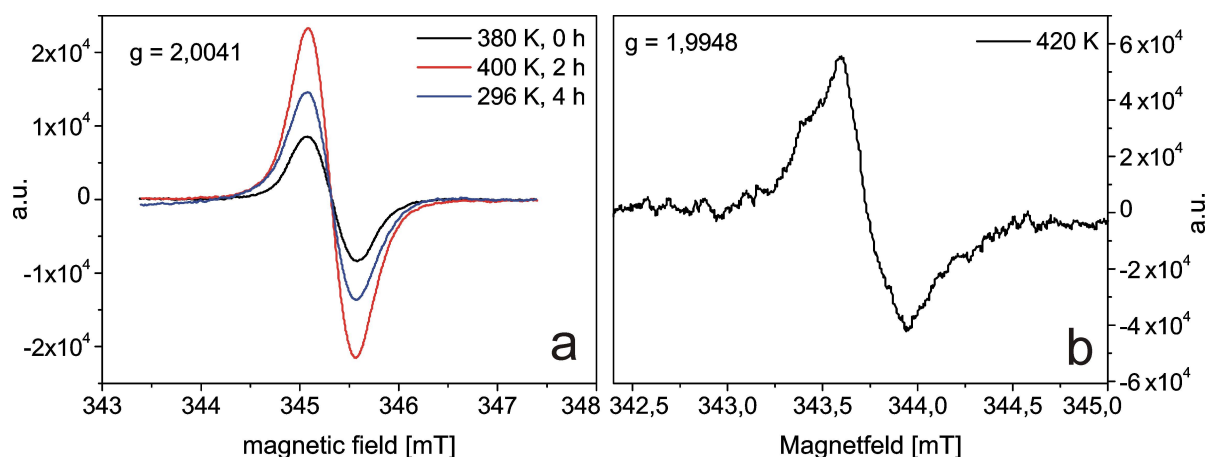


Abbildung 4.32: Spektren der ESR-Experimente (a) *syn*-head to head-NKD-OMe (b) *anti*-head to tail-NKD-OMe

Ab etwa 110 °C (380 K) zeigte sich bei beiden Proben das erste Signal. Das Signal des *anti*-head to tail-NKD-OMe blieb jedoch stets deutlich schwächer im Vergleich zu dem des *syn*-head to head-NKD-OMe, obwohl beide Proben nahezu dieselbe Stoffmenge enthielten. Aufgrund der hohen Dimerkonzentration in den Proben war in beiden ESR-Signalen keine Feinstruktur zu erkennen. Die  $g$ -Werte mit  $g = 2,0041$  und  $g = 1,9948$  liegen im für organische Radikale charakteristischen Bereich von etwa 2.

Das *syn*-head to head-NKD-OMe wurde von 296-400 K nochmals genauer untersucht (Abb. 4.32a). Das EPR Signal wuchs mit zunehmender Temperatur (380 K  $\rightarrow$  400 K) und blieb auch nach Abschalten der Heizspirale und Abkühlen auf Raumtemperatur (400 K  $\rightarrow$  296 K) noch weitere 2 Stunden detektierbar. Die Rate der [2+2]-Cycloreversion ist folglich temperaturabhängig, wobei das stärkere Signal bei *syn*-head to head-NKD-OMe und die relativ lange Beständigkeit des Signals beim Ab-

kühlen darauf deuten, dass die gebildeten Biradikale eine höhere Stabilisierung erfahren als im *anti*-head to tail-NKD-OMe.

Im Anschluss an die ESR-Experimente wurden die Proben wieder aus den ESR--Röhrchen gelöst und in der HPLC analysiert, um sicherzugehen, dass ausschließlich die [2+2]-Cycloreversion stattgefunden hat. Die Chromatogramme zeigten die bereits aus Abb. 4.28 bekannten Produktverteilungen, wobei Produkt (4) beim *syn*-head to head-NKD-OMe mangels protischem Lösungsmittel wie erwartet nicht entstanden war.

Eine Feinstruktur war leider aufgrund der hohen Probenkonzentration nicht zu detektieren und damit auch keine für Biradikale charakteristische Struktur des Signals. Da die g-Werte mit etwa 2 im erwarteten Bereich für organische Moleküle liegen und über die Chromatogramme sichergestellt werden konnte, dass ausschließlich die Monomere als Produkte entstanden waren, ist davon auszugehen, dass es sich bei der thermisch induzierten [2+2]-Cycloreversion um einen radikalischen Mechanismus handelt.

#### 4.4.4 Aufklärung des Reaktionsmechanismus

Ausgehend von den vorausgegangenen Experimenten wurde nun nach den folgenden bekannten Eigenschaften der Reaktionsmechanismus bestimmt:

- Die Reaktion ist erster Ordnung.
- Abhängig von Konfiguration entstehen stets H5FU und 1-3 Produkte die sich vom Naphtalenon ableiten.
- Die Reaktion erfolgt über einen radikalischen Übergangszustand.
- Das Radikal am H5FU ist durch Mesomerie und Fluor in  $\alpha$ -Stellung stabilisiert.
- Das Biradikal im *syn*-head to head-NKD-OMe ist besser stabilisiert als das im *anti*-head to tail-NKD-OMe.

Für beide Dimere entsteht das Biradikal zunächst auf Seiten des Fluors im H5FU, da es dort anscheinend die größte Stabilisierung erfährt. Für das *anti*-head to tail-NKD-OMe gibt es keine weiteren Möglichkeiten das Radikal zu stabilisieren. Das Biradikal kann nun entweder den zweiten Bindungsbruch eingehen und man erhält die Monomere oder die erste Bindung schließt sich wieder und es bleibt beim Dimer.

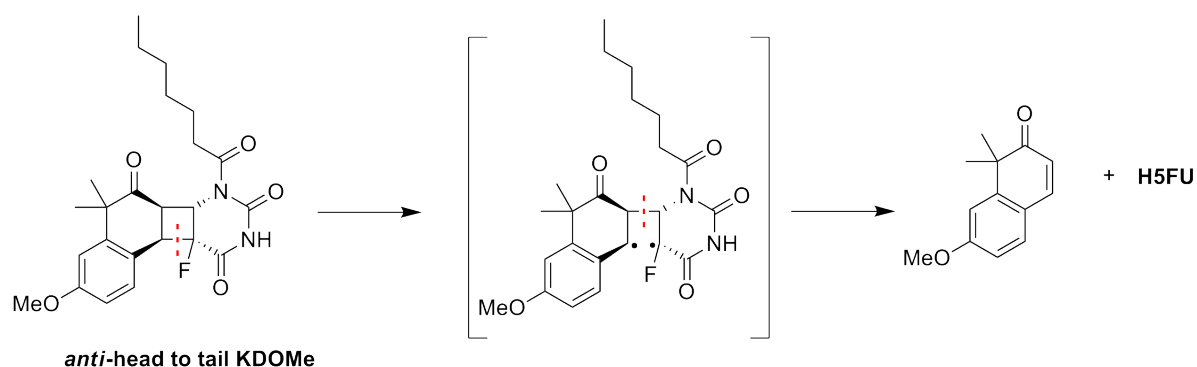


Abbildung 4.33: Reaktionsmechanismus der thermischen [2+2]-Cycloreversion von *anti*-head to tail-NKD-OMe

Im Falle des *syn*-head to head-NKD-OMe gibt es nach dem ersten Bindungsbruch nun mehr als einen Reaktionsweg. Zum einen kann einfach der zweite Bindungsbruch im Cyclobutanring stattfinden und man erhält die beiden Monomere H5FU und Naphthalenon wie beim *anti*-head to tail-NKD-OMe. Alternativ schließt sich die Bindung wieder und das Dimer bleibt bestehen.

Der zweite mögliche Reaktionsweg kann nur in protischem Lösungsmittel stattfinden, wie es auch experimentell beobachtet wurde. Hier wird vom Lösungsmittel ein H-Atom abstrahiert um zunächst das Radikal am Naphtalenon abzusättigen. Durch die bessere Stabilisierung des ungepaarten Elektrons am H5FU geschieht in diesem Molekül nichts. Dann kann der zweite Bindungsbruch stattfinden, im H5FU schließt sich die Doppelbindung und am Naphtalenon wird ein weiteres H-Atom abstrahiert, um das zweite Radikal dort abzusättigen. Man erhält somit Produkt (4), das 1,1-Dimethyltetralon (vgl. Abb.4.28).

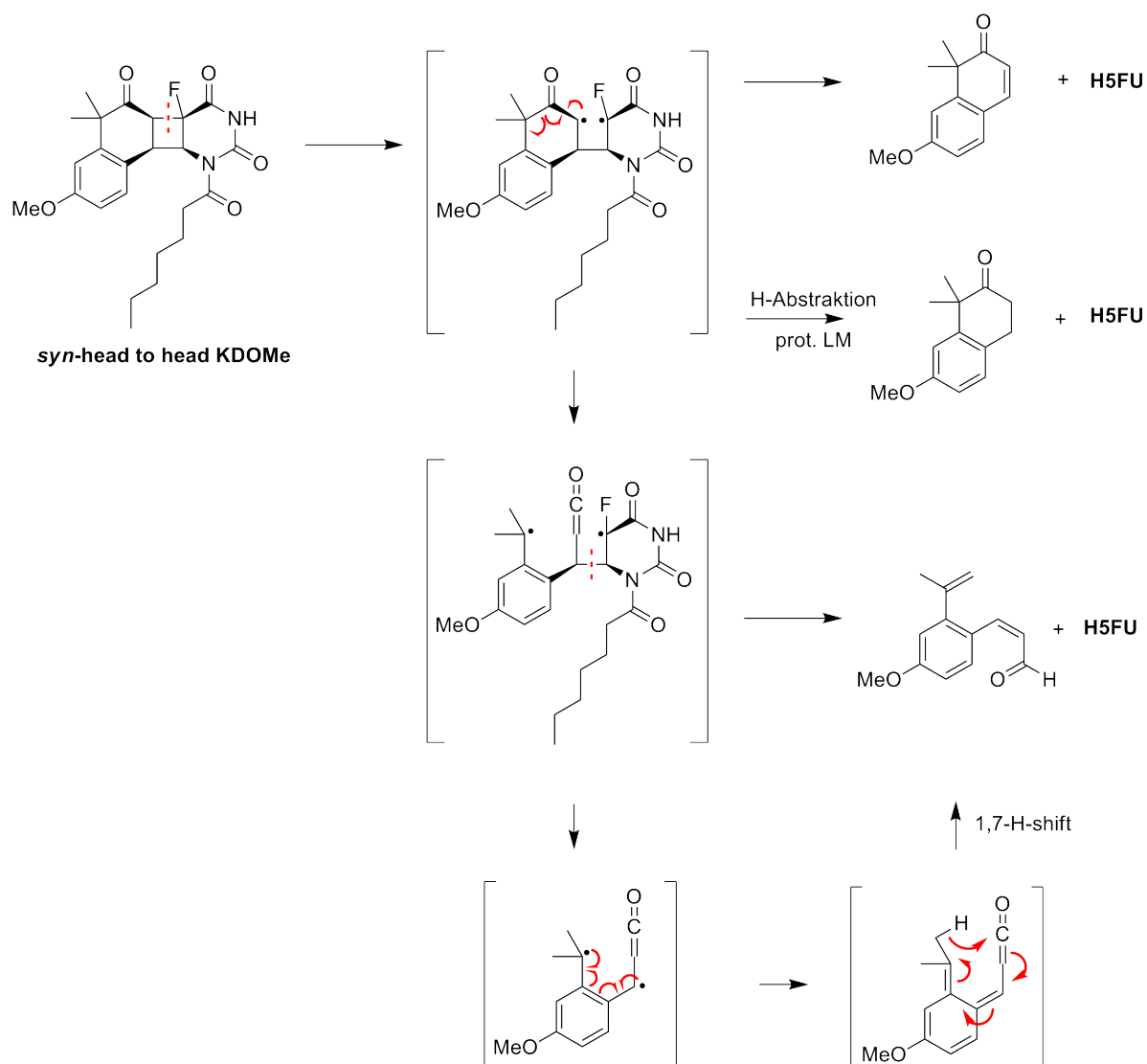


Abbildung 4.34: Reaktionsmechanismus der thermischen [2+2]-Cycloreversion von *syn*-head to head-NKD-OMe

Der dritte Reaktionsweg sieht vor, dass auch das erste am Naphtalenon entstandene Radikal durch Umlagerung eine Stabilisierung erfährt. Die 1,1-Dimethylgruppe ist über einen positiven induktiven Effekt und Hyperkonjugation ebenfalls in der Lage, ein Radikal zu stabilisieren. Anschließend kann es zum zweiten Bindungsbruch kommen. Auf der Seite des H5FUs schließt sich die Doppelbindung. Auf der anderen Seite am Naphtalenon ist das Radikal nicht mehr in unmittelbarer Nähe zum Cyclo-

butanring und es kann sich direkt keine Bindung schließen. Eine weitere radikalische Umlagerung findet statt um die beiden Radikale im Molekül wieder eine Bindung eingehen zu lassen. Da die Aromatizität am Sechsring temporär aufgehoben wird, ist anschließend ein 1,7-H-Shift begünstigt, um das aromatische System wiederherzustellen und man erhält das 3-(4-Methoxy-2-(prop-1-en-2-yl)phenyl)acrylaldehyd (2)<sup>[110]</sup>.

## 4.5 Thermisch stabile Kreuzdimere

Die thermische [2+2]-Cycloreversion des NKD-OMe ist rein wissenschaftlich betrachtet sehr interessant und ermöglichte durch die molekularen Gegebenheiten im Dimer die Antwort auf die Frage der radikalischen Natur der schon häufiger beobachteten, jedoch nach den Woodward-Hoffmann Regeln verbotenen und bisher unaufgeklärten Reaktion.

Für die Anwendung als Wirkstoffkomplex in IOLs ist diese Eigenschaft des Dimers jedoch unerwünscht, da so die hydrophilen Linsen nicht autoklavierbar sind, was die Standardprozedur zur Sterilisierung hydrophiler Polymermaterialien darstellt.

Um weitere Aussagen bezüglich der strukturellen Gründe der Instabilität zu gewinnen, wurde zunächst das 1,1-Dimethylnaphtalenon genauer untersucht. Ein Ansatz des Homodimers ND (s. Kap. 5.1.5) und ein Ansatz 1,1-Dimethylnaphtalenon-Dimethyluracil-Kreuzdimers TKD (s. Kap. 5.1.5) wurden synthetisiert und miteinander verglichen. Beide Dimere wurden bei 140 °C inkubiert und anschließend analysiert. Dabei stellte sich heraus, dass das ND auch nach Stunden stabil bleibt und keine [2+2]-Cycloreversion eingeht, während sich das TKD wieder recht schnell zu den Monomeren abbaut. Daraus lässt sich schließen, dass es nicht alleine im 1,1-Dimethylnaphtalenon begründet liegt, dass das NKD eine [2+2]-Cycloreversion eingeht. Auch der Uracilbaustein bzw. seine Analoga 1,3-Dimethylthymine und 5FU müssen hier eine entscheidende Rolle spielen.

Aus der Literatur ist bereits bekannt, dass Uracil selbst in der Lage ist durch Mesomerie Radikale im Molekülring zu stabilisieren<sup>[108]</sup>. Erschwerend kommt beim 5FU noch die  $\alpha$ -Fluor-Gruppe hinzu, die durch Resonanz mittels 2-Zentren-3-Elektronen-Bindung ungepaarte Elektronen stabilisieren kann. Da das 5FU als Wirkstoff für die Applikation im Auge bereits erfolgreich erprobt ist<sup>[67]</sup> und daher beibehalten werden soll, kann das Dimer nur auf Seiten des Naphtalenons variiert werden.

Zu diesem Zweck wurden verschiedene andere Monomere in Betracht gezogen, die neben der Doppelbindung zur [2+2]-Cycloaddition auch ein aromatisches System besitzen sollen, an der die zu funktionalisierende Hydroxygruppe für die Copolymerisation angebracht werden kann.

Von 1,4-Naphtochinon<sup>[111–113]</sup>, 1,1-Dihydronaphtalen<sup>[114–116]</sup>, Stilben<sup>[117–119]</sup>, Zimtsäure<sup>[120,121]</sup> und Chalkon<sup>[122,123]</sup> waren bereits Dimerisierungsreaktionen in der Literatur bekannt, allerdings ausschließlich Homodimerisierungen. Des weiteren wurde noch Coumarin in diesen Test mit einbezogen, da auch hier die thermische Stabilität noch nicht getestet worden war. Als weitere mögliche Kandidaten wurden die folgenden sechs neuen Moleküle ausgewählt:

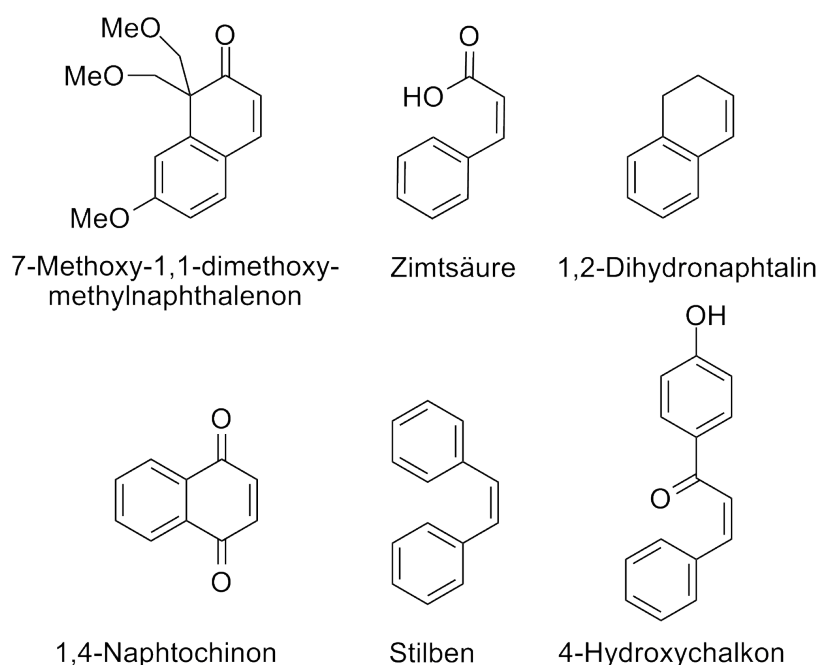


Abbildung 4.35: Mögliche Kandidaten zur Dimerisierung mit H5FU

Das 7-Methoxy-1,1-dimethoxynaphtalenon wurde zuerst untersucht. Der Ersatz der zwei Methylgruppen durch die zwei Methoxygruppen sollte durch ihren negativen induktiven Effekt kein Radikal stabilisieren oder zumindest weniger. 1,1-Dimethylnaphtalenon zeigte in der ursprünglichen Synthese bereits starke Lichtinstabilität, die das Molekül vermutlich über ein Biradikal weiterreagieren ließen. Diese bereits bekannte Reaktion ist in Abb. 4.36 gezeigt<sup>[124]</sup>. Die Empfindlichkeit gegenüber Licht ist



ebenfalls der Möglichkeit der Stabilisierung von ungepaarten Elektronen im Molekül zuzuschreiben, in diesem Fall der Dimethylgruppe und der Carbonylfunktion.

Leider wurde während der Synthese zum 7-Methoxy-1,1-dimethoxynaphtalenon diese Lichtempfindlichkeit in der Vorstufe des 7-Methoxy-1,1-dimethoxytetralons bereits ebenfalls festgestellt. Der induktive Effekt scheint in diesem Molekül nicht allein entscheidend für die Stabilisierung ungepaarter Elektronen zu sein. Daraufhin wurde die Verfolgung der Synthese zu Dimeren mit 7-Methoxy-1,1-dimethoxynaphtalenon abgebrochen, da bereits jetzt davon ausgegangen werden kann, dass bei erhöhten Temperaturen wieder eine thermisch induzierte [2+2]-Cycloreversion stattfindet.

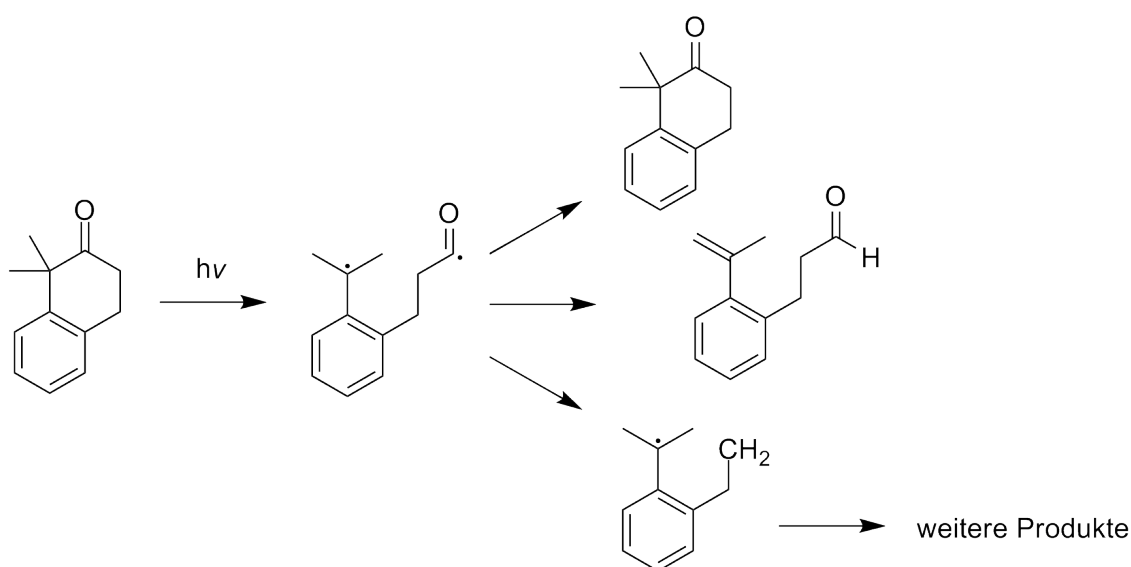


Abbildung 4.36: Lichtinduzierter radikalischer Zerfall von 1,1-Dimethyltetralon<sup>[124]</sup>

Für die weiteren Kandidaten traten derartige Effekte nicht auf. Das 4-Hydroxychalkon, die Zimtsäure und das 7-Hydroxycoumarin mussten vor der Testdimerisierung noch geschützt werden, damit die freien Hydroxygruppen nicht in der photochemischen Reaktion störten. Die Zimtsäure wurde mittels einer säurekatalysierten Veresterung mit Methanol geschützt, das 4-Hydroxychalkon und das 7-Hydroxycoumarin mit der bereits bekannten und für die Dimerisierung unproblematischen *tert*-Butyldimethylsilylgruppe.

Die sechs Monomere wurden alle mit einem Überschuss H<sub>5</sub>FU im Photoreaktor bestrahlt und die Produktverteilungen in der analytischen HPLC untersucht. Die Dimerisierung mit H<sub>5</sub>FU gelang grundsätzlich für alle Kandidaten. Der Überschuss H<sub>5</sub>FU wurde hydrolysiert und abfiltriert und das so erhaltene Rohprodukt direkt für den Test der thermischen Stabilität eingesetzt.

### 4.5.1 Temperaturtest

Es wurde jeweils eine Probe in Acetonitril und in Methanol angesetzt und diese bei 140 °C für insgesamt mehrere Stunden inkubiert und in bestimmten Zeitabständen ein HPLC-Chromatogramm aufgenommen. Die Ergebnisse dieser Stabilitätstests sind in Abb. 4.37 zusammengefasst.

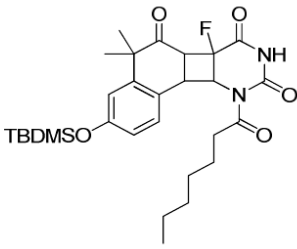
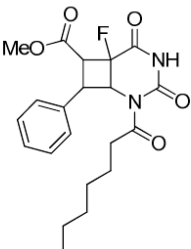
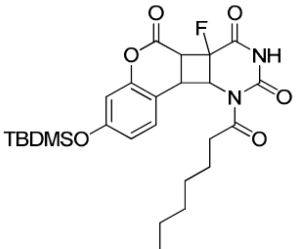
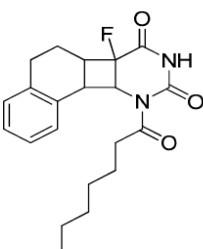
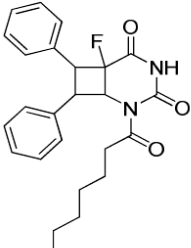
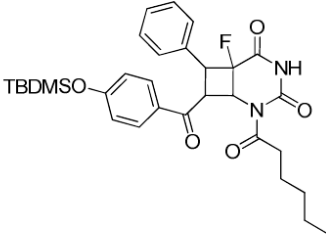
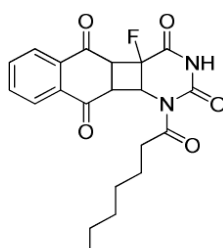
Monomer	7-TBDMS-1,1-dimethylnaphtalenon	Zimtsäuremethylester
Kreuzdimer		
stabil bei 140 °C	-	-
7-TBDMS-Coumarin	1,1 Dihydronaphtalen	
		
-	+/-	
Stilben	4-TBDMS-Chalkon	1,4-Naphtochinon
		
+	+	+

Abbildung 4.37: Auf Temperaturstabilität getestete Kreuzdimere

Das 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon wurde bereits in Kap.4.4 als NKD-OMe genauer bezüglich der thermischen [2+2]-Cycloreversion untersucht, die Beobachtungen zu den übrigen Dimeren müssen noch genauer diskutiert werden.

Ein sehr ähnliches Verhalten wie bei NKD-OMe wurde auch bei anderen Dimeren gefunden. Das Dimer mit Zimtsäuremethylester spaltete sich ebenso wie das NKD-OMe eindeutig in die Monomere wieder auf, sowohl in Acetonitril als auch in Methanol. Da der Zimtsäuremethylester dem Coumarin strukturell recht ähnlich ist, wurde dies als nächstes untersucht. Hier war die Spaltung nicht ganz so eindeutig wie beim Zimtsäuremethylester. Es ist bekannt, dass Coumarindimere bei Kontakt mit Methanol einer Hydrolyse des Lactonringes unterliegen<sup>[85]</sup>, daraus entsteht als Produkt ein Zimtsäurederivat mit einer Hydroxygruppe am Ring. Dieses kann dann ebenfalls eine thermischen Cycloreversion eingehen. In Acetonitril hydrolysiert der Lactonring des Coumarindimers dagegen nicht. Allerdings wurde auch hier ein Abbau des Dimers bei 140 °C beobachtet, der allerdings deutlich langsamer vor sich geht als der von 1,1-Dimethylnaphtalenon.

Das 1,1-Dihydronaphtalen zeigte in Methanol ebenfalls eine thermische Instabilität, wohingegen es in Acetonitril erhalten blieb. Hier scheint die Verwendung eines protischen Lösungsmittels die thermische Cycloreversion deutlich zu fördern, vermutlich abstrahiert das Molekül ebenfalls H-Atome des Lösungsmittels und das neben H<sub>5</sub>FU erhaltene Produkt ist das 1,2,3,4-Tetrahydronaphtalin. Leider war es aufgrund der kleinen Ansätze nicht möglich eine Probe für NMR Experimente zu isolieren und Analytik in der LCMS ist mit Ungenauigkeiten von  $M^+ = \pm 1$  bei einem Massenunterschied von 2 durch die zwei H-Atome zu uneindeutig. Da sich das Dimer ausgerechnet in protischen Lösungsmitteln temperaturinstabil zeigte, ist es für die Applikation in wässriger Umgebung ohnehin ungeeignet und wurde als Kandidat ebenso wie der Zimtsäuremethylester und das Coumarin nicht mehr weiterverfolgt.

Es wurden noch drei weitere Kandidaten untersucht, die den oben genannten hinsichtlich der Struktur immer weniger ähneln. Diese drei, 4-TBDMS-Chalkon, Stilben und 1,4-Naphtochinon, zeigten sich sowohl in Acetonitril als auch in Methanol bei 140 °C über mehrere Stunden ohne jegliche Detektion von Abbauprodukten stabil. Die Sterilisation dieser Dimere mittels Autoklavieren bei etwa 120 °C über mehrere Stunden sollte also möglich sein. Bei der thermisch induzierten [2+2]-Cycloreversion scheinen folglich bestimmte Strukturmerkmale entscheidend zu sein, ob es zu zweimaligem Bindungsbruch im Cyclobutanring kommt oder nicht.

## 4.6 Strukturen der Dimerkandidaten

Es stellt sich die Frage, warum einige der Dimere einer thermischen [2+2]-Cycloreversion unterliegen und manche nicht. Zu diesem Zwecke wurden von allen Dimeren Struktur- und Elektronendichteberechnungen mittels ORCA <sup>[88]</sup> vorgenommen, um die Dimere genauer miteinander vergleichen zu können. Die Strukturberechnungen wurden mittels der Dichtefunktionaltheorie mit dem B3LYP Hybrid-Verfahren berechnet<sup>[89]</sup>.

Zunächst wurden die vier NKD-OMe-Dimere berechnet und genauer hinsichtlich ihrer strukturellen Unterschiede untersucht. Um eine bessere Übersichtlichkeit zu gewährleisten, sind die Cyclobutanringe der berechneten Dimerstrukturen im Folgenden grün markiert.

Cycloalkane sind häufig nicht ganz planar, da die  $sp^3$ -hybridisierten C-Atome bestrebt sind ihre Bindungswinkel möglichst dem idealen Tetraederwinkel von 109,47° anzupassen<sup>[125]</sup>. Insbesondere Cyclopropan und Cyclobutan erreichen diesen Winkel jedoch nie ganz und unterliegen dem sogenannten „small angle strain“. In reinem Cyclobutan liegen die Winkel etwa bei 90°. Die Winkel im NKD-OMe liegen mit 88 - 91° etwa in dieser Region. Im Gegensatz zu reinem Cyclobutan haben hier die benachbarten Gruppen am Cyclobutanring weiteren Einfluss auf die sterischen Verhältnisse.

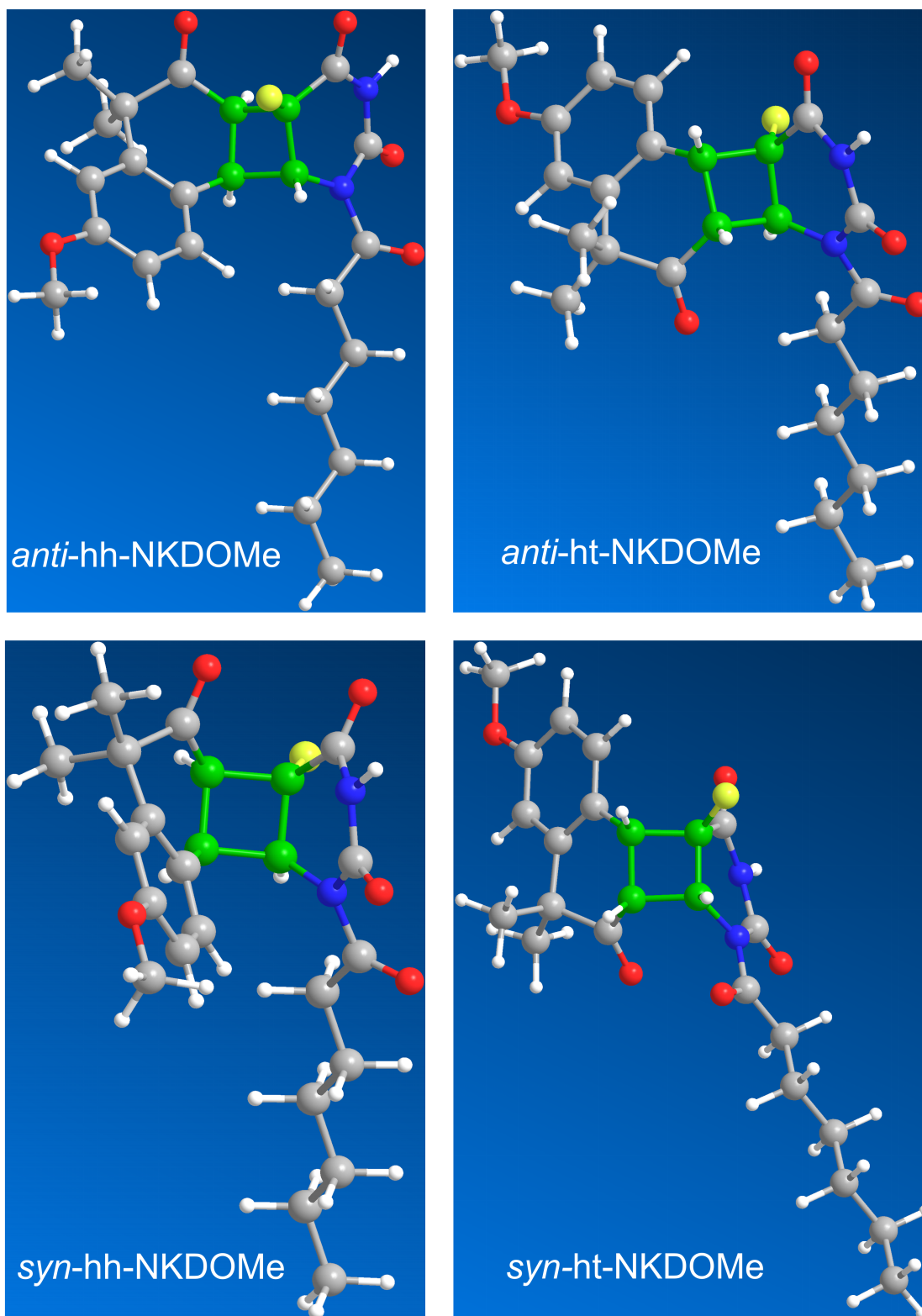


Abbildung 4.38: Strukturen der vier NKD-OMe-Dimere

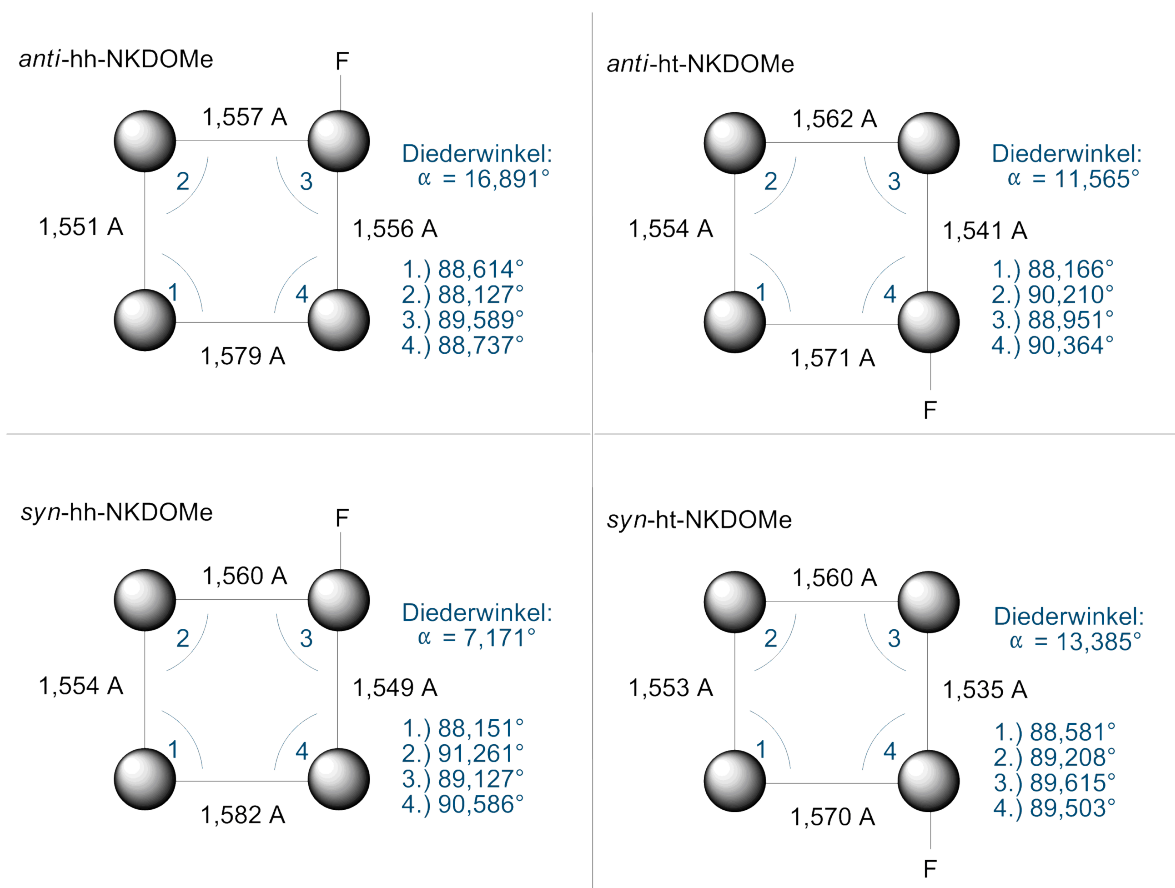


Abbildung 4.39: Zusammenfassung der Winkel und Bindungslängen der Cyclobutanringe der vier NKD-OMe-Dimere

Im direkten Vergleich zu Dicoumarin, dessen Struktur mittels Röntgenstrukturanalyse untersucht wurde, ergeben sich keine großen Unterschiede. Auch für Dicoumarin lagen die Winkel im Bereich  $88 - 90^\circ$  und die Bindungslängen im Bereich von  $1,55 \text{ \AA}$ <sup>[72]</sup>.

Auffällig sind jedoch die teilweise recht deutlichen Unterschiede im Diederwinkel. Während *anti-hh*, *anti-ht* und *syn-ht* in etwa demselben Bereich liegen, ist der Winkel im *syn-hh* mit  $\alpha = 7,1710^\circ$  deutlich kleiner. Ob dies jedoch Auswirkungen auf die Cycloreversion hat, kann nicht nachgewiesen werden, da sowohl *syn-hh*- als auch *anti-ht*-NKD-OMe nahezu dieselben Quantenausbeuten besitzen (vgl. Kap. 4.2.1).

Für die neuen Dimerkandidaten wurden nun dieselben Berechnungen durchgeführt.

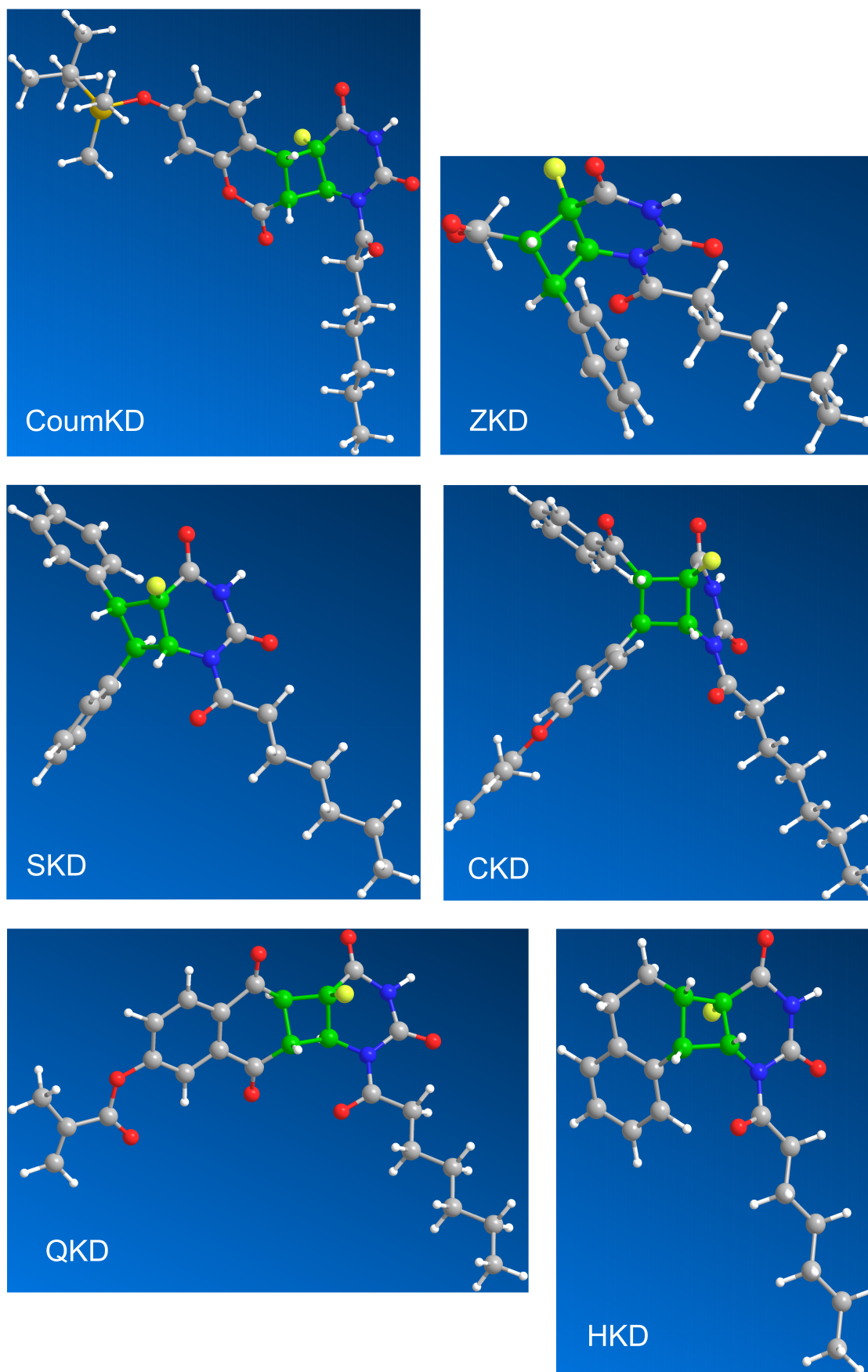


Abbildung 4.40: Strukturen von Coumarin- (CoumKD), Zimtsäuremethylester- (ZKD), Stilben- (SKD), Chalkon- (CKD), 1,4-Naphtochinon- (QKD) und 1,1-Dihydronaphtalen (HKD)



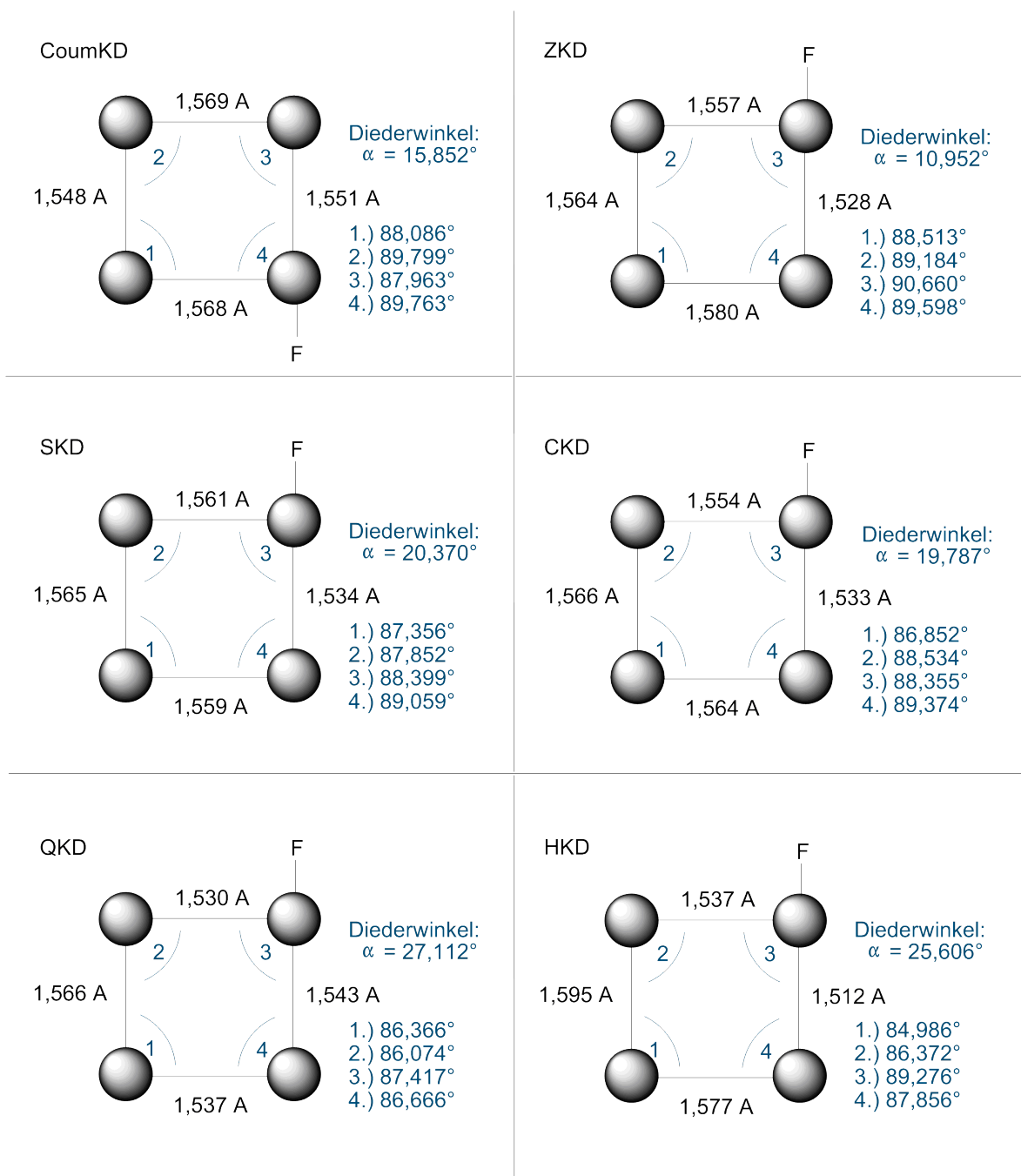


Abbildung 4.41: Zusammenfassung der Winkel und Bindungslängen der Cyclobutanringe der neuen Dimerkandidaten

Auch hier zeigten sich wiederum recht ähnliche Bindungslängen und Bindungswinkel, aber unterschiedliche Diederwinkel. Während das CoumKD noch recht nahe bei

den für NKD-OMe berechneten Werten liegt, liegen die weiteren neuen Dimere deutlich höher. Hier lässt sich jedoch ebenfalls keine Tendenz bezüglich der Stabilität feststellen, HKD und ZKD mit  $\alpha = 26^\circ$  und  $\alpha = 11^\circ$  sind bei  $140^\circ\text{C}$  thermisch instabil, während SKD, CKD und QKD mit  $20^\circ$ ,  $21^\circ$  und  $27^\circ$  stabil sind. Es ließen sich leider keine generellen Aussagen durch die strukturellen Ergebnisse bezüglich besonderer Stabilitäten oder Instabilitäten machen. Die Strukturberechnungen ergaben keine besonderen Auffälligkeiten hinsichtlich besonderer sterischer Verhältnisse, die eine so leicht anregbare homolytische Spaltung zur thermischen [2+2]-Cycloreversion erklären könnten.

Auch die Elektronendichteberechnungen der verschiedenen Strukturen ließen keine besonderen Merkmale verschobener Elektronendichten im Molekül erkennen, die einen eindeutigen Hinweis auf mögliche Anfälligkeit hinsichtlich Bindungsbrüchen zuließen. Die Berechnungen liefern einen ersten Eindruck der Geometrien und  $e^-$ -Verteilungen, deuten aber darauf hin, dass die Elektronendichteverteilung im Molekül per se nicht für die thermische Instabilität verantwortlich sind.

Vergleicht man nun die bereits untersuchten Dimerstrukturen miteinander, fällt auf, dass es einige strukturelle Ähnlichkeiten, abgesehen vom H5FU, gibt. Das 1,1-Dimethylnaphtalenon ist dem Coumarin recht ähnlich, wobei der Zimtsäuremethylester als ein Derivat des lactonhydrolysierten Coumarins betrachtet werden kann. Diesen Molekülen ist gemein, dass sie in unmittelbarer Nähe zum Cyclobutanring sowohl eine Carbonylgruppe, wie auch eine aromatische Gruppe besitzen. Die Carbonylgruppe ist mittels der positiven Partialladung am C-Atom in der Lage ein ungepaartes Elektron zu stabilisieren, der Aromat durch Delokalisation des Elektronenmangels an benachbarten C-Atomen. Diese Kombination kann jedoch nicht alleine für die Instabilität verantwortlich sein, da sich diese Kombination auch im stabilen Chalkon, zwei Aromaten im Stilben oder zwei Carbonylgruppen im 1,4-Naphtochinon finden. Anhand der Geschwindigkeit des thermischen Abbaus des Dimers wurde eine Reihe der Geschwindigkeit der Reaktion bei  $140^\circ\text{C}$  erstellt.

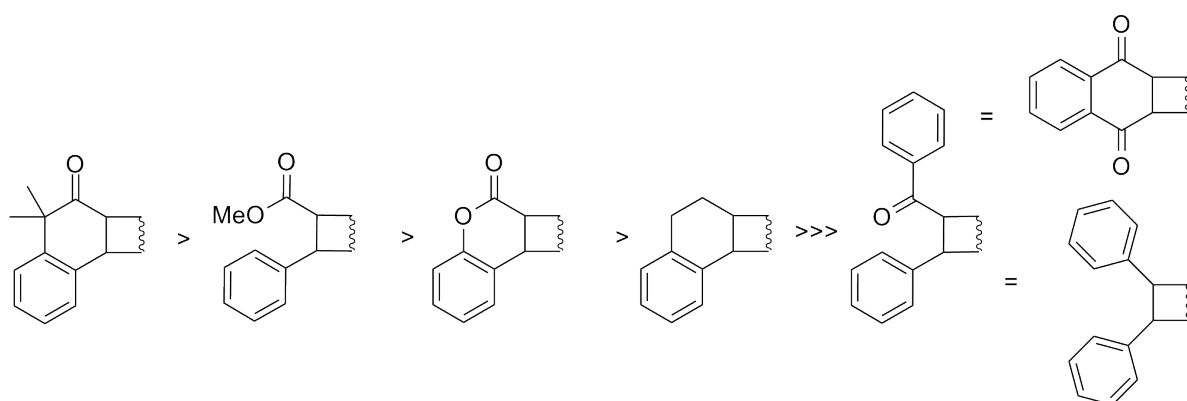


Abbildung 4.42: Reihenfolge nach Geschwindigkeit der thermischen Zersetzung der verschiedenen Kreuzdimere

Neben dem Vorhandensein einer benachbarten Carbonylgruppe und eines Aromaten scheint auch die nähere Umgebung der Carbonylgruppe eine Rolle zu spielen. Das 1,1-Dimethylnaphthalenondimer reagiert am zügigsten, gefolgt vom Zimtsäuremethylester und anschließend Coumarin, welches deutlich langsamer zerfiel. Der Säuremethylester und das Lacton, ein intramolekularer cyclischer Ester, begünstigen die thermische Reaktion, im Gegensatz zum Chalkon, das an dieser Stelle nur eine isolierte Carbonylgruppe besitzt. Das 1,1-Dihydronaphthalin stellt in dieser Reihe wahrscheinlich eine Art Sonderfall dar, da es nur abhängig vom Lösungsmittel thermische Cycloreversion eingeht oder auch nicht, was vermuten lässt, dass sekundäre Reaktionen wie H-Abstraktion vom Lösungsmittel, eine entscheidende Rolle spielen. Das 1,4-Naphtochinon und das Stilben besitzen jeweils entweder isolierte Carbonylgruppen oder aromatische Gruppen, die zumindest bei 140 °C keine ausreichende Stabilisierung für eine thermische [2+2]-Cycloreversion liefern.

Um jedoch abschließend beurteilen zu können, ob wirklich eine dieser Substanzen der Autoklavierung standhalten kann, müssen diese im Polymer gebunden einem entsprechenden Test unterzogen werden.

## 4.7 Synthese weiterer funktionalisierter Polymermaterialien

Für die Synthese und Untersuchung weiterer Dimere als Linker für H5FU wurden 4-Hydroxychalkon (CKD) und 1,4-Naphtochinon (QKD) ausgewählt. 4-Hydroxychalkon wurde zunächst mit der bereits bekannten *tert*-Butyldimethylsilylschutzgruppe für die Dimerisierung geschützt und im Photoreaktor dimerisiert. 1,4-Naphtochinon musste zunächst mit einer Hydroxyfunktion für die spätere Anbindung der Methacrylsäure versehen werden. Hierzu wurde 1,6-Dihydroxynaphtalin mit Fremy's Salz zum 6-Hydroxy-1,4-naphtochinon oxidiert und ausgeschüttelt. Anschließend wurde dessen Hydroxygruppe ebenfalls mit *tert*-Butyldimethylsilyl geschützt und im Photoreaktor dimerisiert. Der Überschuss H5FU wurde wiederum durch Hydrolyse und Filtration entfernt und beide Dimere mit der präparativen HPLC aufgereinigt. Die Anbindung der Methacrylsäure wurde wie beim 7-Hydroxy-1,1-dimethylnaphtalenon durchgeführt, die TBDMS-Gruppe mit Triethylamin in Dimethylformamid entfernt und mit EDC und DMAP die Methacrylsäure angebunden (s. Kap. 5.1.5 und 5.1.5).

### 4.7.1 Polymerisation

Beide Dimere wurden mittels photochemischer Polymerisation in das Polymer eingebunden. Das Material mit dem 6-Hydroxy-1,4-Naphtochinon gelang problemlos und man erhielt zwei Ronden eines homogenen, optisch klaren und gut transparenten Materials.

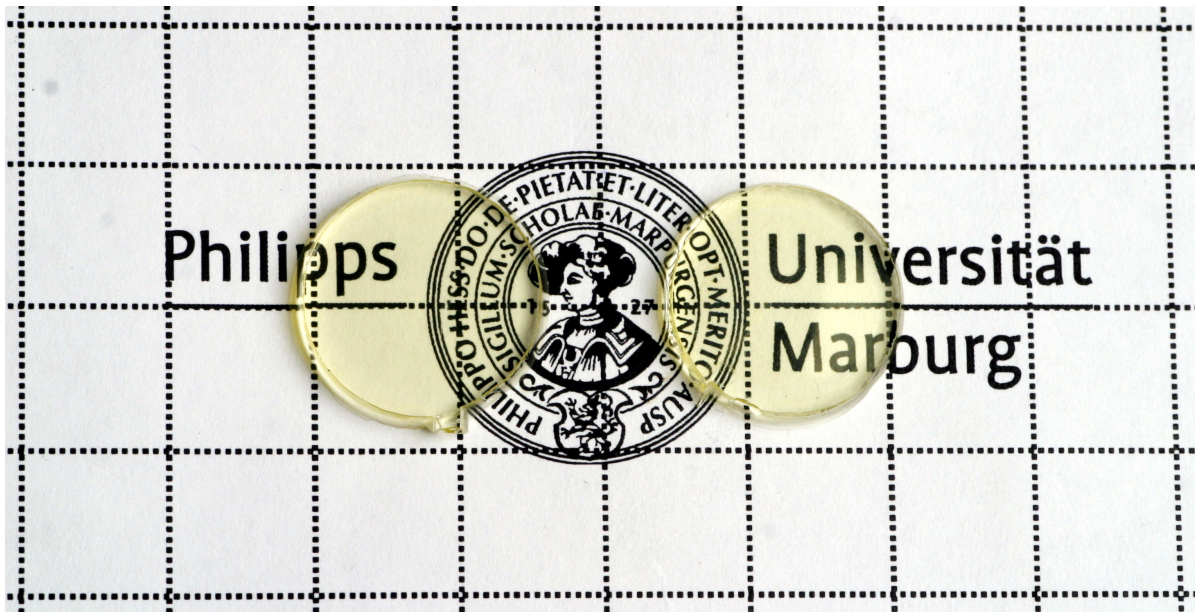


Abbildung 4.43: Wirkstoffbeladene Polymerronden mit QKD (Obenansicht)

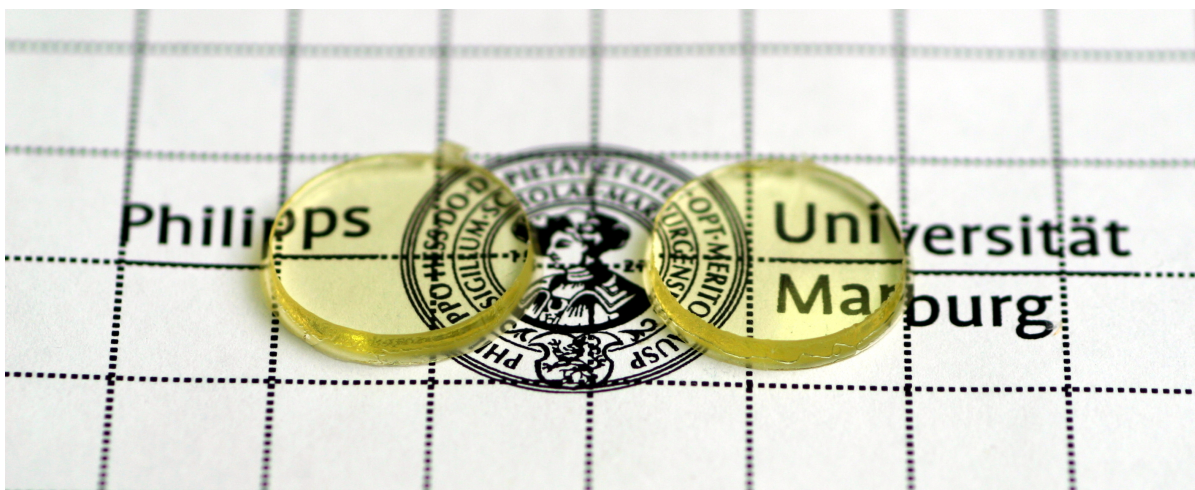


Abbildung 4.44: Wirkstoffbeladene Polymerronden mit QKD (Schrägansicht)

Das Material mit 4-Hydroxychalon gelang ebenfalls. Leider entstand in der letzten Stufe bei der Anbindung der Methacrylsäure ein stark orange gefärbtes Nebenprodukt, das aufgrund der geringen Absolutmenge an Produkt nicht abgetrennt werden konnte. Mittels NMR- und LCMS-Experimenten wurde verifiziert, dass es sich lediglich um geringfügige Mengen Verunreinigung handelte und zum größeren Anteil



das gewünschte Produkt entstanden war. Das Produkt wurde daraufhin über photochemische Polymerisation copolymerisiert, wobei die Verunreinigung das Polymer zunächst orange mit Einschlüssen färbte. Die Einschlüsse deuten darauf hin, dass das Nebenprodukt keine Methacrylsäure enthielt, da dieses sonst homogen mit copolymerisiert worden wäre.

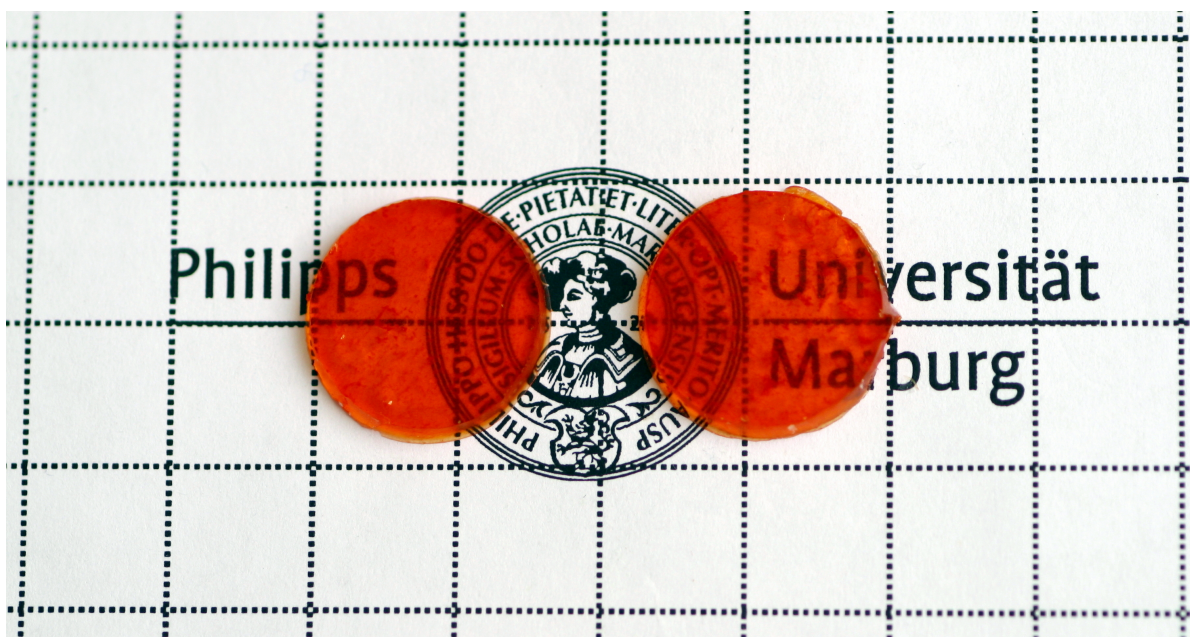


Abbildung 4.45: Wirkstoffbeladene Polymerronden mit CKD (Obenansicht)

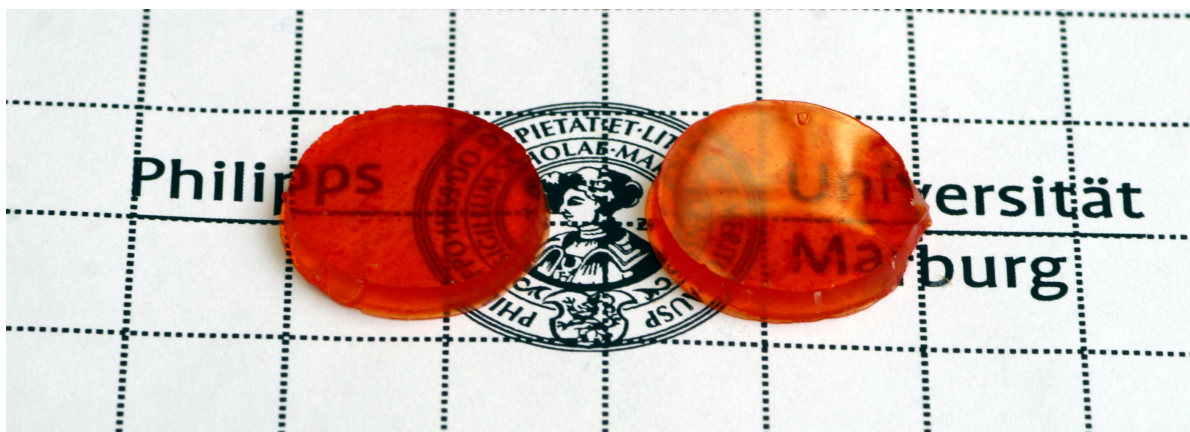


Abbildung 4.46: Wirkstoffbeladene Polymerronden mit CKD (Schrägensicht)

Das orangene Polymermaterial wurde daraufhin 3 Wochen in Methanol inkubiert und bei Raumtemperatur gerührt. Das ungebundene Nebenprodukt ließ sich auf diese Weise einigermaßen entfernen und man erhielt gelb gefärbte Ronden wie in Abb. 4.47 und 4.48 zu sehen.





Die Methanollösung wurde eingengt und das aus dem Polymer gespülte Nebenprodukt im NMR untersucht. Neben Resten nicht einpolymerisierter Methacrylsäure, die zu erwarten war, wurde eine chinoide Struktur identifiziert, die aus dem Chalkon mit EDC/DMAP entstanden sein muss (s. Kap.5.1.5). Dies erklärt auch die kräftige Farbe bei sehr geringer Absolutmenge an Nebenprodukt, da Chinone durch das Motiv des 2,3 ungesättigten 1,4-Diketons acht in Konjugation stehende p-Elektronen besitzen und je mehr elektronenspendende Gruppen am Chinon vorhanden sind, desto ausgeprägter sich eine Farbigekeit zeigt<sup>[126]</sup>.

## 4.7.2 Bestimmung der photochemischen Eigenschaften

### SPA und TPA von QKD

Die Bestimmung der Ein-Photonen-Quantenausbeute wurde wie in Kap. 2.1.5 beschrieben durchgeführt. Der Extinktionskoeffizient für 6-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,4-naphthochinon wurde über einer Verdünnungsreihe zu  $\epsilon_{331} = 2311 \frac{\text{L}}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$  bestimmt.

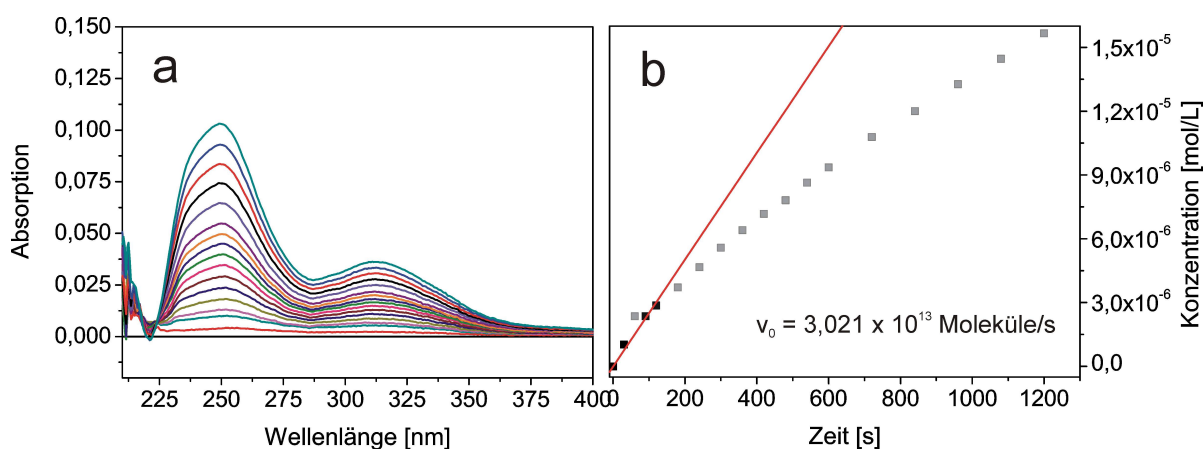


Abbildung 4.49: SPA Messungen für QKD

Die Anfangsgeschwindigkeit wurde hier zu  $v_0 = 3,021 \cdot 10^{13} \text{ Moleküle/s}$  bestimmt, die SPA-Quantenausbeute zu  $\phi_{SPA} = 0,025$ . Die SPA-Quantenausbeute liegt damit etwa doppelt so hoch wie die von NKD-OMe (vgl. Kap. 4.2.1).



Die TPA-Experimente wurden für 60.0, 70.0, 80.0, und 90.0 mJ ebenfalls wie in Kap. 2.1.5 beschrieben durchgeführt.

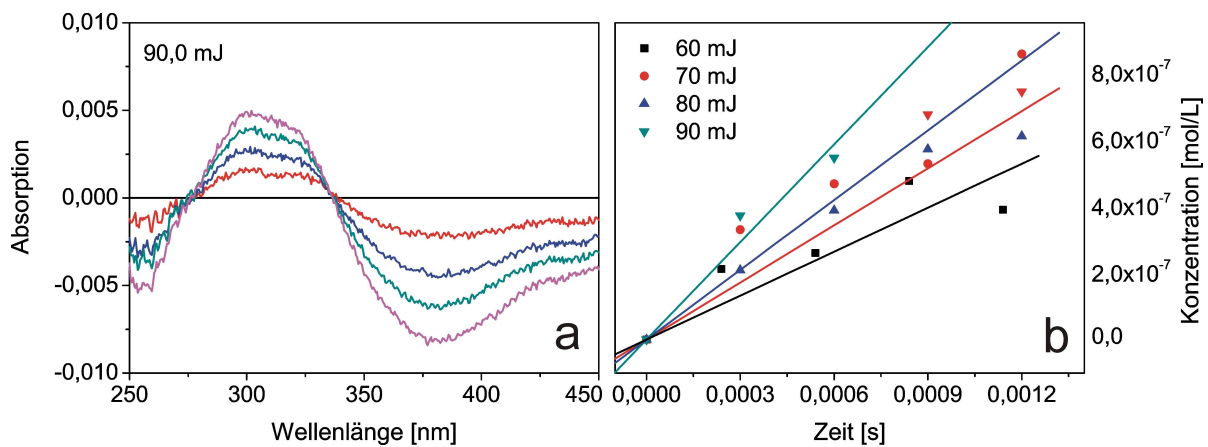


Abbildung 4.50: TPA Messungen für QKD (a) Monomerbande bei 331 nm für 90.0 mJ und (b) zunehmende Monomerkonzentration bei verschiedenen Energien

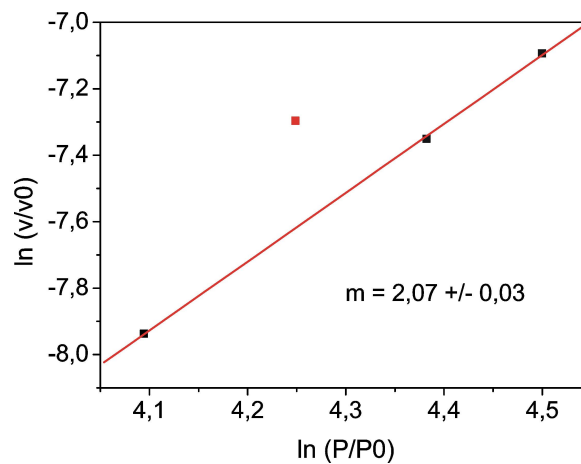


Abbildung 4.51: Doppeltlogarithmische Auftragung der Energien gegen die Anfangsgeschwindigkeiten

Der Wert von 2,07 korreliert sehr schön mit dem theoretisch erwarteten. Der TPA-Querschnitt wurde zu  $10,7 \text{ GM}$  bestimmt und liegt damit in der Größenordnung der 1,1-Dimethylnaphtalenon-Homodimere (vgl. Kap. 4.1).

### SPA und TPA von CKD

Die Bestimmung der Ein-Photonen-Quantenausbeute wurde wie in Kap. 2.1.5 beschrieben durchgeführt. Der Extinktionskoeffizient für 4-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-chalkon wurde über einer Verdünnungsreihe zu  $\epsilon_{313} = 22913 \frac{L}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$  bestimmt.

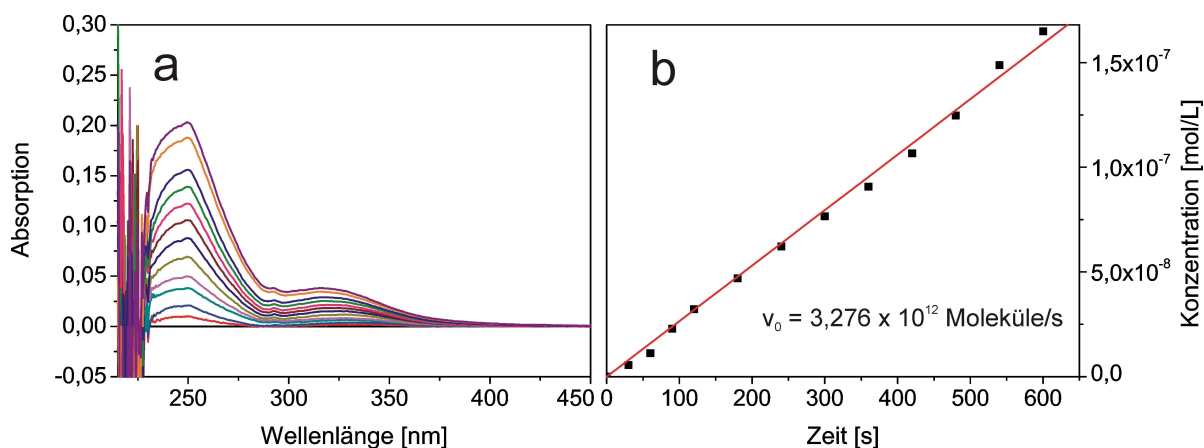


Abbildung 4.52: SPA Messungen für CKD

Die Anfangsgeschwindigkeit betrug  $v_0 = 3,276 \cdot 10^{12}$  Moleküle/s, die SPA-Quantenausbeute  $\phi_{SPA} = 0,003$ . Die Quantenausbeute liegt damit deutlich niedriger als die von NKD-OMe mit  $\phi_{SPA} = 0,01$  (vgl. Kap.4.2.1).

Die TPA-Experimente wurden für 60.0, 70.0, 80.0, und 90.0 mJ ebenfalls wie in Kap. 2.1.5 beschrieben durchgeführt.

Der TPA-Querschnitt für CKD wurde zu 20,1 GM bestimmt. Damit liegt der Wert verglichen mit den anderen Dimeren relativ hoch, er beträgt das Doppelte der 1,1-Dimethylnaphtalenon-Homodimere. Es ist jedoch zu beachten, dass durch die notwendige Annahme der Gültigkeit der SPA-Quantenausbeute auch für die TPA-Reaktion<sup>[54]</sup> ein gewisser Fehler in der Berechnung der Querschnitte einfließt, insbesondere wenn der Wert für  $\phi_{SPA}$  sehr klein ist werden die TPA-Querschnitte nach Gleichung 2.12 groß.

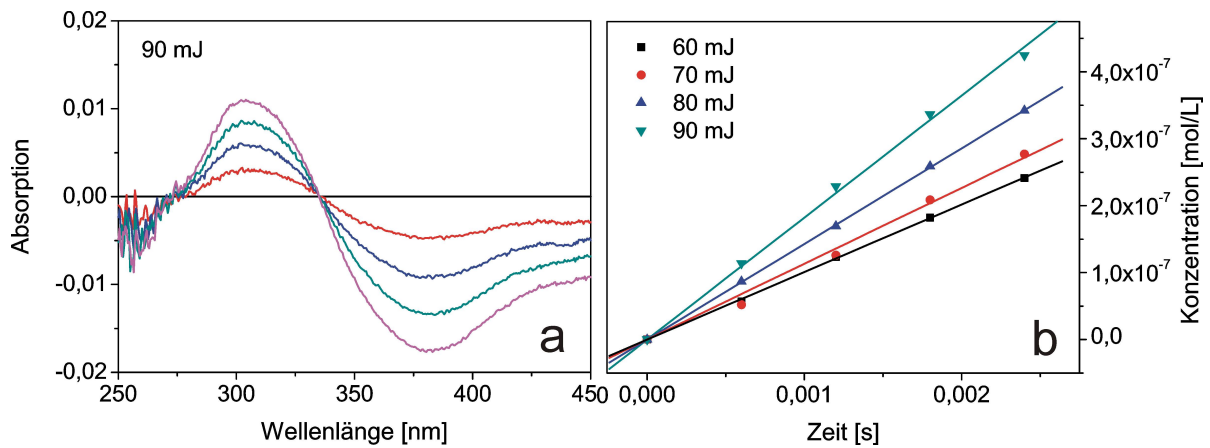


Abbildung 4.53: TPA Messungen für CKD (a) Monomerbande bei 313 nm für 90.0 mJ und (b) zunehmende Monomerkonzentration bei verschiedenen Energien

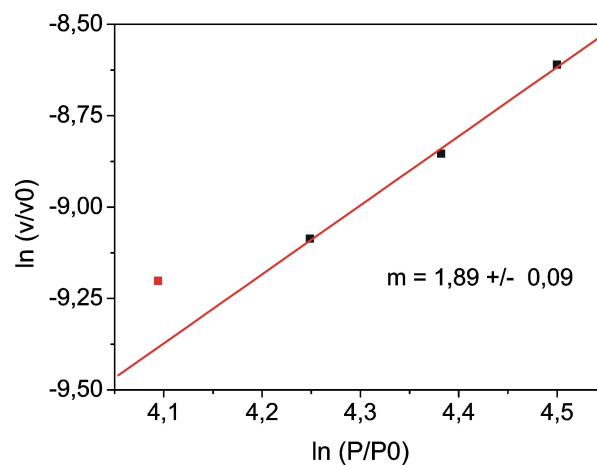


Abbildung 4.54: Doppeltlogarithmische Auftragung der Energien gegen die Anfangsgeschwindigkeiten

Durch die Steigung nahe 2 konnte auch hier der Zwei-Photonen-Charakter der Spaltung mathematisch nachgewiesen werden.

### 4.7.3 Sterilisation und Wirkstofffreisetzung

#### Sterilisation durch Autoklavieren

Beide Polymermaterialien wurden in Wasser inkubiert und einem Standard-Autoklavierungsprogramm wie in Tab. 4.1 beschrieben über 2 Stunden unterzogen.

Zeit	Temp. /°C	Druck /bar
0	22	0
10	102	0,7
20	121	1,1
30	122	1,1
45	109	0,2
60	97	0
70	88	0
100	76	0
120	22	0

Tabelle 4.1: Autoklavierungsprogramm

Anschließend wurde die Wasserphase mittels UV/VIS und HPLC untersucht und es konnte keinerlei Freisetzung von 5FU detektiert werden. Dies kann als erstes Indiz dafür gewertet werden, dass die Wirkstoff-Linker-Konjugate CKD und QKD gegenüber erhöhten Temperaturen und Druck stabil sind.

### Freisetzung nach Sterilisation

Die autoklavierten Polymerproben wurden jeweils 1 min mit der UV-C Lampe bestrahlt und anschließend die Freisetzung aus dem Material beobachtet. Die Massen der Proben betrugen 19,4 mg für CKD und 12,6 mg für QKD.

In Abb. 4.55 sind die Messungen und die Berechnung der Freisetzungsgeschwindigkeit für QKD abgebildet, in Abb. 4.56 die für CKD.

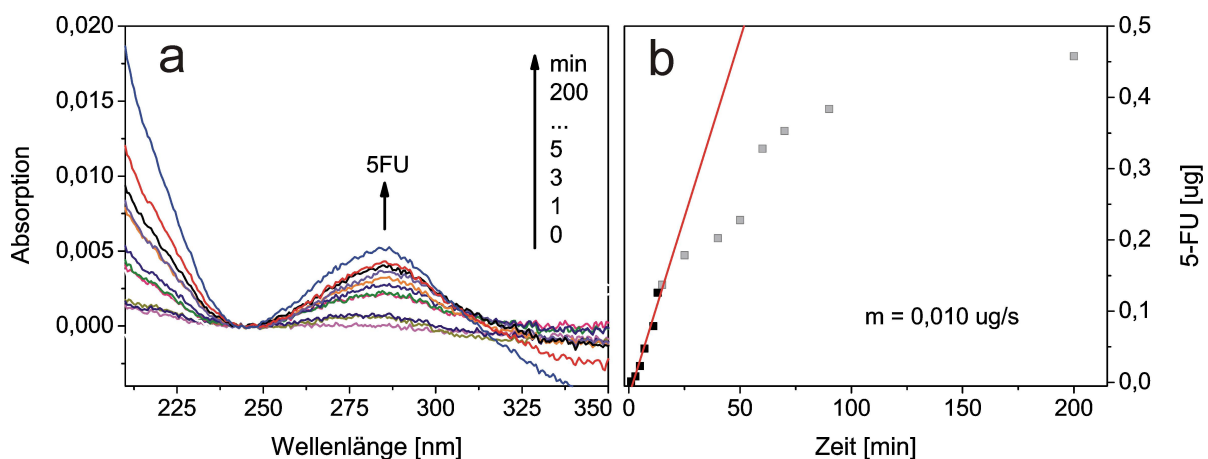


Abbildung 4.55: Diffusion von 5FU aus dem mit QKD beladenen Polymermaterial (a) Im Verlauf der Freisetzung zunehmende Bande an 5FU (b) Bestimmung der Diffusionsgeschwindigkeit

Für beide Polymere gelang die Freisetzung von 5FU aus dem Wirkstoff-Linker-Konjugat und damit der Beweis der Aktivität auch nach der Sterilisation durch Autoklavieren.

Die Diffusionsgeschwindigkeit für 5FU aus dem Polymer wurde bereits in Kap. 4.3.1 für eine Linse von 20 mg aus mit NKD beladenem Polymer bestimmt. Für die hier diskutierten Polymermaterialien wurden Plattenreste von verschiedener Form und Masse verwendet. Die Diffusionsgeschwindigkeit von 5FU aus dem Polymer gleicher Zusammensetzung ist für alle gleich, da sie von Material, Größe, Form, Oberflä-

che u.ä. Parametern abhängt und erst nach Freisetzung des Wirkstoffes einsetzt.

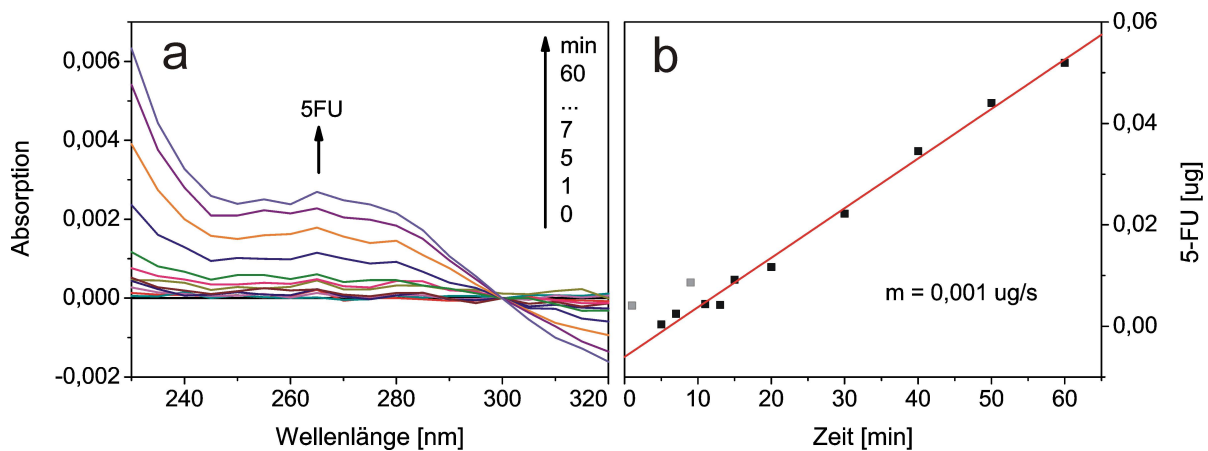


Abbildung 4.56: Diffusion von 5FU aus dem mit CKD beladenen Polymermaterial (a)  
Im Verlauf der Freisetzung zunehmende Bande an 5FU - Differenzspektren (b) Bestimmung der Diffusionsgeschwindigkeit

Wie bereits in Kap. 4.7.2 festgestellt, spaltet CKD deutlich langsamer als QKD, wodurch hier schon ein Unterschied in der Diffusionsrate zu erwarten ist. Je weniger 5FU freigesetzt wird, desto niedriger liegen die Konzentrations- und damit Partialdruckkräfte zwischen Polymer und umgebendem Medium und desto langsamer diffundiert das 5FU aus dem Material. Der Beladungsgrad von CKD und QKD ist nahezu gleich. Die Anfangsgeschwindigkeiten der Gleichgewichtseinstellung wurden für CKD zu  $v_{CKD} = 0,001 \text{ µg/s}$  und QKD zu  $v_{QKD} = 0,010 \text{ µg/s}$  berechnet. Normiert man die Geschwindigkeiten noch auf 20 mg Polymermaterial, ergeben sich  $v_{CKD} = 0,001 \text{ µg/s}$  und  $v_{QKD} = 0,016 \text{ µg/s}$ . Die Freisetzung aus QKD funktioniert folglich bei gleicher Bestrahlung deutlich besser, wie bereits von den SPA-Querschnitten zu erwarten war (vgl. Kap.4.7.2).

Als Ergebnis dieser Versuche kann festgehalten werden, dass die Freisetzung auch aus den beiden neuen Materialien auch nach Sterilisation durch Autoklavieren erfolgreich verlief, wobei QKD mit der höheren Quantenausbeute auch erwartungsgemäß am schnellsten 5FU freisetzte.

### TPA-Freisetzung aus QKD-Polymermaterial

Die Zwei-Photonen-induzierte Freisetzung aus dem Polymermaterial wurde auch für das 1,4-Naphtochinon getestet. Ein Polymerstück ( $0,4 \text{ mm} \times 11,5 \text{ mm}$ ) wurde in der Halterung der Vier-Fenster Quarzglasküvette befestigt und insgesamt zweimal mit je 5 000 Pulsen und einmal mit 6 000 Pulsen der Energie  $90,5 \text{ mJ}$  bestrahlt. Die Diffusion aus dem Polymer in die Wasserphase wurde spektrometrisch im  $90^\circ$ -Winkel beobachtet.

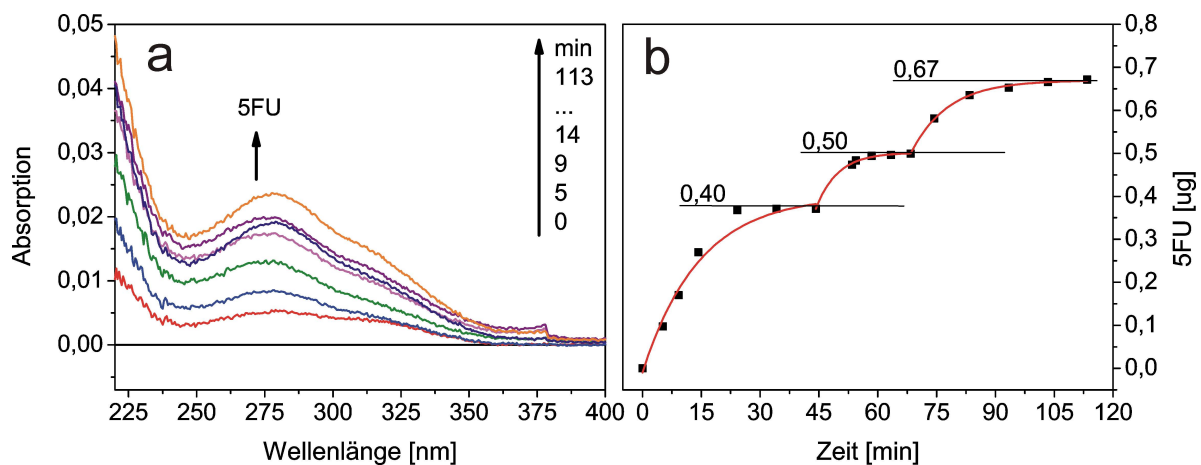


Abbildung 4.57: TPA-Freisetzung von QKD (a) UV/Vis-Spektren der Wasserphase nach der ersten Bestrahlung und (b) Menge an freigesetztem 5FU mit der Zeit bei insgesamt 3 Bestrahlungen.

Der Beginn der Freisetzung wurde ab 5,2 min gemessen, da die Bestrahlung mit 5 000 Pulsen bei 20 Hz 4,2 min in Anspruch nahm. Der Verlauf der Diffusion folgte dem erwarteten Verlauf einer beschränkten exponentiellen Wachstumskurve. Bei der ersten Bestrahlung wurden  $0,40 \mu\text{g}$  5FU freigesetzt, bei der zweiten  $0,10 \mu\text{g}$  und bei der dritten  $0,17 \mu\text{g}$ . Damit wurden entsprechend bei einer Gesamtbeladung von  $0,80 \text{ mg}$  5FU in  $36,1 \text{ mg}$  Polymermaterial  $0,05 \%$ ;  $0,01 \%$  und  $0,02 \%$  freigesetzt.

Bezogen auf das Kapselsackvolumen wurden hier im ersten Schritt das 6,9fache, im zweiten das 1,7fache und im dritten das 2,9fache der  $\text{LD}_{50}$ -Dosis freigesetzt. Im dritten und letzten Schritt wurden 1 000 Pulse mehr auf die Probe gegeben, als im Schritt

davor und erwartungsgemäß wieder eine höhere Freisetzung erreicht. Die freigesetzte Dosis bei gleicher Energien reduziert sich im zweiten Schritt um 75 %.

Die Wiederholbarkeit der Freisetzung konnte experimentell nachgewiesen werden und in allen Freisetzungsschritten wurden Dosen erreicht, die mindestens dem LD<sub>50</sub>-Wert entsprachen.

### TPA-Freisetzung aus CKD-Polymermaterial

Entsprechend der SPA-Freisetzung aus Polymermaterial wurde auch die Zwei-Photonen-induzierte Freisetzung aus dem Polymermaterial getestet. Hierzu wurde ein Polymerstück (0,4 mm × 11,5 mm) in der Halterung der 4-Fenster Quarzglasküvette befestigt und insgesamt dreimal mit je 10 000 Pulsen der Energie 90,5 mJ bestrahlt. Die Diffusion aus dem Polymer in die Wasserphase wurde wiederum spektrometrisch im 90°-Winkel beobachtet.

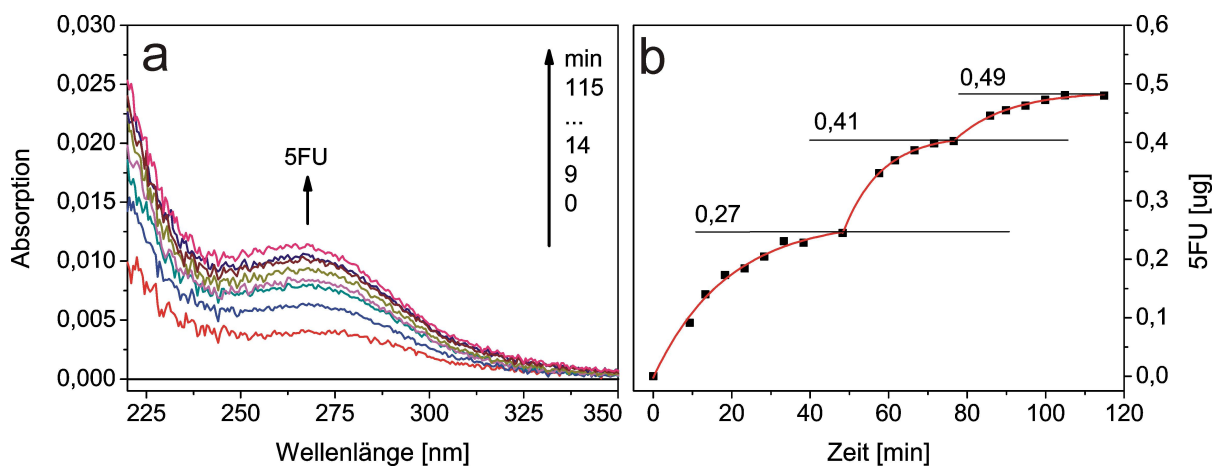


Abbildung 4.58: TPA-Freisetzung von CKD (a) UV/Vis-Spektren der Wasserphase nach der ersten Bestrahlung und (b) Menge an freigesetztem 5FU mit der Zeit bei insgesamt 3 Bestrahlungen.

Der Beginn der Freisetzung wurde wieder jeweils ab 9,3 min gemessen werden, da die Bestrahlung mit 10 000 Pulsen bei 20 Hz 8,3 min in Anspruch nahm. Der Ver-



lauf der Diffusion folgte dem erwarteten Verlauf einer exponentiellen, beschränkten Wachstumskurve. Bei der ersten Bestrahlung wurden  $0,27 \mu\text{g}$  5FU freigesetzt, bei der zweiten  $0,14 \mu\text{g}$  und bei der dritten  $0,08 \mu\text{g}$ . Damit wurden entsprechend bei einer Gesamtbeladung von  $0,48 \text{ mg}$  5FU in  $24,1 \text{ mg}$  Polymermaterial  $0,10 \%$ ;  $0,03 \%$  und  $0,02 \%$  freigesetzt.

Bezogen auf ein Kapselsackvolumen von etwa  $100 \mu\text{L}$  wird eine Absolutmenge von  $0,058 \mu\text{g}$  5FU für die  $\text{LD}_{50}$ -Dosis benötigt, diese wurde hier im ersten Schritt um das 4,6fache, im zweiten um das 2,4fache und im dritten um das 1,4fache überschritten. Die freigesetzten Dosen bei gleichen Energien reduzieren sich in jedem Schritt um etwa die Hälfte.

Die Wiederholbarkeit der Freisetzung konnte experimentell nachgewiesen werden und in allen Freisetzungsschritten wurden Dosen erreicht, die den  $\text{LD}_{50}$ -Wert übertreffen. Die exakten Parameter für das erfolgreiche Zusammenspiel von Beladungsgrad der IOL und der für die TPA-Freisetzung verwendeten Laser am Auge und der günstigsten Verhältnisse von Energieeinstrahlung zu Bestrahlungszeit, um die effektive Dosis zur Behandlung des Nachstars zu einzustellen, bleibt zukünftigen klinischen Studien überlassen.

## 4.8 Zusammenfassung

Das angestrebte Ziel dieser Arbeit, die Entwicklung neuer photochemisch aktivierbarer Linkerstrukturen zur Behandlung des Nachstars mittels 5FU, konnte durch die synthetische Entwicklung mehrerer neuer Linkermoleküle für die Wirkstoffimmobilisierung erreicht werden.

Das zuerst untersuchte 1,1-Dimethylnaphtalenon zeigte positive Freisetzungseigenschaften sowohl als Homodimer für die Freisetzung von Wirkstoffen, die über Ester angebunden werden können, als auch für 5FU. Die Freisetzung aus dem Polymer zeigte den gewünschten Verlauf eines diffusionsgesteuerten Prozesses mit anfänglichem Burst-Effekt. Das 1,1-Dimethylnaphtalenon-Kreuzdimer unterlag allerdings bei der Autoklavierung, im Gegensatz zum Homodimer, einer thermisch induzierten [2+2]-Cycloreversion. Diese wissenschaftlich interessante Beobachtung wurde genauer untersucht und der Reaktionsmechanismus konnte erfolgreich aufgeklärt und erstmals experimentell bewiesen werden. Aus weiteren Untersuchungen an verschiedenen 5FU-Kreuzdimeren konnten erste Erkenntnisse zu den Ursachen der thermischen [2+2]-Cycloreversion gewonnen werden, die strukturellen Gegebenheiten im Molekül hinsichtlich möglicher Stabilisierung von Radikalen spielt hier eine wichtige Rolle. Ausgehend von diesen Erkenntnissen wurden weitere mögliche Linkermoleküle für die direkte Dimerisierung mit 5FU entwickelt.

Des Weiteren wurde in dieser Arbeit eine generelle Vorschrift für die Synthese wirkstoffbeladener Polymere entwickelt, die mit jeweils auf die Monomere zugeschnittenen kleinen Modifikationen erfolgreich für Coumarin, 1,1-Dimethylnaphtalenon, 1,4-Naphtochinon und Chalkon erprobt wurde. Für alle untersuchten Monomere sind die photochemischen Daten für jeweils das entsprechende Monomer, Kreuzdimer (KD) und Homodimer (D) in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Monomer	Coum	N	DMT	H	Z <sup>[127]</sup>	S <sup>[128]</sup>	C	Q
$\lambda_{max}$ [nm]	316	331	269	260	311	294	313	331
$\epsilon$ [ $\frac{L}{mol \cdot cm}$ ]	11347	10250	8127	9735	24000	29100	22913	2311
Homodimer	CoumD	ND	TD	HD	ZD	SD	CD <sup>[123]</sup>	QD
hydrolyse-stabil	-	+	+	+	+	+	+	+
temperatur-stabil	+	+	+	+	+	+	+	+
SPA	0,36	0,01* 0,12 <sup>×</sup>	0,04*	0,14 <sup>×</sup>			0,009 <sup>×</sup>	0,02*
TPA [GM]	0,9	9,8* 12,7 <sup>×</sup>	4,7*	16,1 <sup>×</sup>			11,0 <sup>×</sup>	36,3*
Kreuzdimer	CoumKD	NKD	TKD	HKD	ZKD	SKD	CKD	QKD
hydrolyse-stabil	-	+	+	+	+	+	+	+
temperatur-stabil	-	-	-	+/-	-	+	+	+
SPA		0,01 <sup>†</sup> 0,01 <sup>°</sup>					0,003	0,025
TPA [GM]		2,41 <sup>†</sup> 1,81 <sup>°</sup>					20,1	10,7

\* *syn*-head to tail-Konfiguration

† *syn*-head to head-Konfiguration

° *anti*-head to tail-Konfiguration

× *anti*-head to head-Konfiguration

Im Laufe dieser Untersuchungen konnten weitere Beispielmoleküle für die thermische [2+2]-Cycloreversion identifiziert werden, aber auch neue potentiell temperaturstabile Linkermoleküle. Zwei davon, das 1,4-Naphtochinon und das 4-Hydroxychalkon, wurden erfolgreich in neue wirkstoffbeladene Polymermaterialien copolymerisiert. Beide Wirkstoff-Linker-Konjugate bewiesen ihre Stabilität gegen erhöhte Temperaturen und Drücke in einem Autoklavierungstest und ihre anschließende Aktivität als Drug-Delivery-Device für 5FU. Die Freisetzung aus dem Polymer vor und nach Sterilisation wurde erfolgreich nachgewiesen und die Diffusionseigenschaften bestimmt. Auch in diesem Falle gehorchte die Freisetzung des Zytostatikums einem diffusionskontrollierten Prozess.

Die Weiterentwicklung einer wirkstoffbasierten Behandlung des Nachstars mittels 5FU und die synthetische Entwicklung eines photochemisch aktivierbaren wirkstoffbeladenen Polymers konnten erfolgreich abgeschlossen werden. Als geeignete Molekülbausteine für die Immobilisierung von 5FU erwiesen sich das 1,4-Naphtochinon und das 4-Hydroxychalkon, die beide im Vergleich zu früher verwendeten Linkermolekülen größere chemische Stabilität und verbesserte photochemischen Eigenschaften besitzen.

## 5 Materialien und Methoden

### 5.1 Materialien und Methoden

#### 5.1.1 Chemikalien

Alle Chemikalien für die Synthese wurden sofern nicht anders angegeben von folgenden Firmen bezogen und in der gelieferten Qualität eingesetzt:

- *Acros* (Gell, Belgien)
- *Fisher Scientific* (Schwerte, Deutschland)
- *Fluorochem* (Derbys, Großbritannien)
- *Merck* (Darmstadt, Deutschland)
- *Sigma-Aldrich* (Taufkirchen, Deutschland)

Entionisiertes Wasser wurde aus der Wasseraufbereitungsanlage durch reverse Osmose der Philipps-Universität Marburg, Fa. *TKA Wasseraufbereitungssysteme* erhalten. Lösungsmittel für die organische Synthese wurden von der Chemikalienausgabe des Fachbereichs Chemie der Universität bezogen und vor der Verwendung destilliert.

#### 5.1.2 Analytik

##### NMR Spektroskopie

Alle kernresonanzspektroskopischen Messungen wurde in der zentralen NMR-Abteilung des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg durchgeführt. 300

MHz - Standardmessungen wurden an einem FT-Kernresonanzspektrometer *Avance 300 B* der Firma *Bruker* aufgenommen, die Skala der chemischen Verschiebung in ppm wurde anhand der Restprotonensignale des jeweiligen deuterierten Lösungsmittels kalibriert. Die  $^{13}\text{C}$ -Spektren wurden breitbandentkoppelt aufgenommen. Messungen an den Spektrometern *Avance DRX 400* und *Avance DRX 500*, beide ebenfalls der Firma *Bruker*, wurden von der NMR-Abteilung im Handbetrieb gemessen.

### ESR Spektroskopie

Elektronen-Spin-Resonanz Spektroskopie wurde in der zentralen ESR-Abteilung des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg an einem mit einem Varian X-Band Resonator ausgerüsteten *ESP 300 E* Spektrometer von *Bruker* gemessen. Proben wurden in Quarzglasröhrchen der Firma *Wilmad* vorbereitet, welche bei Bedarf abgeschmolzen wurden. Optional konnte das EPR-Spektrometer noch mit einer mit Formiergas betriebenen Heizspirale ausgerüstet werden, um bei Temperaturen bis 140 °C Messungen durchzuführen.

### HPLC Chromatographie

High Performance Liquid Chromatography Chromatogramme wurden entweder an einem *UltiMate 3000* System von *Dionex* oder an einer *1050-HPLC* von *Agilent Technologies* aufgenommen. Beide waren mit einer *Nucleosil RP18H* Säule (3.0  $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4 mm) von *Bischoff Chromatography* für den Betrieb mit Acetonitril ausgestattet, das *UltiMate 3000* System des weiteren noch mit einer *Nucleosil RP18* Säule (5.0  $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4 mm), ebenfalls von *Bischoff Chromatography*, für den Betrieb mit Methanol. Als Eluenten wurden Acetonitril oder Methanol, jeweils HPLC-grade, und entionisiertes, mit 300  $\mu\text{L/L}$  Phosphorsäure angesäuertes Wasser verwendet.

### Massenspektrometrie

Massenspektren mittels Elektrospray-Ionisation wurden an einem *ESI/MS LCQ Duo* Massenspektrometer der Firma *Thermoelectron* aufgenommen. Für LCMS (liquid chro-

matography mass spectroscopy) Messungen wurde demselben Massenspektrometer eine 1050-HPLC von *Agilent Technologies* vorgeschaltet. Als Laufmittel wurden stets Acetonitril/Wasser (3:1 oder 7:3) verwendet. Das entionisierte Wasser wurde mit 300  $\mu$ L/L Ameisensäure angesäuert.

GC/MS (gas chromatography mass spectroscopy) Messungen wurden an einem GC-17A/GCMS-QP5050 Massenspektrometer von *Shimadzu*, ausgerüstet mit einer SE-54-cb-Säule von *Chromatography Service* ausgeführt.

### UV/Vis Spektroskopie

UV/Vis-Spektren wurden an einem *Lambda 35* Spektrometer der Firma *Perkin Elmer* bei Raumtemperatur in 2-Fenster- oder 4-Fenster-Quarzglasküvetten der Firma *Hellma* ( $d = 1,0$  cm) aufgenommen.

### CHN-Analyse

Die Elementaranalysen wurden in der zentralen CHN-Analytik des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg an einem Gerät der Firma *Heraeus*, Modell *CHN-Rapid* durchgeführt.

### IR-Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden in der IR-Abteilung des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg mit einem *Interferometer IFS 88* der Firma *Bruker* als KBr-Pressling oder Nujol-Verreibung aufgenommen.

### Thermogravimetrische Analyse

Die Massenänderung in Abhängigkeit der Temperatur wurde an einem *TGA/SDTA 851<sup>e</sup>* Gerät von *Mettler Toledo* durchgeführt. Es wurden Polymerproben von etwa 10 mg an Luft gemessen, der Temperaturbereich betrug 25-800 °C, die Heizrate lag bei 10 K/min.

### 5.1.3 Aufreinigungsmethoden

#### Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie wurde *TLC Silica Gel 60F* der Firma *Merck* verwendet. Die Aluminiumstreifen mit  $\text{SiO}_2$ - Beschichtung wurden auf die benötigte Größe zugeschnitten und die Substanzen nach der chromatographischen Trennung durch UV-Licht bei 254 bzw. 366 nm detektiert.

#### Flash-Säulenchromatographie

Für die Aufreinigung größerer Substanzmengen via Säulenchromatographie wurde *Silicagel 60* (230-400 Mesh, 0.040-0.063 mm) der Firma *Machery-Nagel* mit den jeweils angegebenen Lösungsmittelgemischen verwendet.

#### Präparative HPLC

Die Aufreinigung chemisch empfindlicher Substanzen wurde über präparative reversed-phase HPLC durchgeführt. Das System bestand aus einer *YMC-Pack ODS-A* Säule (C18, 5.0  $\mu\text{m}$ , 250 mm x 4 mm) der Firma *YMC*, einem *AD 25* Absorptionsdetektor und einer *P680* HPLC-Pumpe, beides von *Dionex*. Als Laufmittel wurde ausschließlich Acetonitril und entionisiertes, mit 300  $\mu\text{L}$   $\text{H}_3\text{PO}_4$  pro Liter angesäuertes Wasser verwendet.

### 5.1.4 Lichtquellen für Photoreaktionen

#### UV-Lampen

Für [2+2]-Cycloadditionsreaktionen wurde eine Lichtquelle benötigt, die UV-Strahlung mit hoher Intensität ausstrahlt. Der dafür verwendete Rayonet-Reaktor wurde in der elektronischen Werkstatt des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg gebaut. In einer mit einer Lüftung versehenen Metallbox sind an jeder Wand je vier UV-Leuchtstoffröhren angebracht. Die Betriebstemperatur im Gerät lag etwa



bei 31 °C. Es wurden Lampen des Typs *Osram Eversun 40 W/79 K*, *Osram Eversun 40 W/79 H255* und *Philipps 40 W-R 35* verwendet. Die zu bestrahlenden Lösungen wurden in verschließbaren Reagenzgläsern, die für Strahlung der Wellenlängen  $< 320$  nm durchlässig sind, in der Mitte des Reaktors an Klemmen festgemacht und während der Bestrahlungsdauer durchgehend mit Magnetrührermotoren gerührt.

Die Spektren der Leuchtstoffröhren wurden mit einem optischen Faser CCD array *Instaspec* der Firma *Oriel* überprüft.

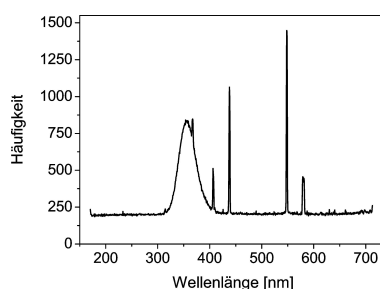


Abbildung 5.1: Spektrum der UV-Leuchtstoffröhren

Alle drei verwendeten Röhren zeigten dasselbe Spektrum. Die Intensitäten der Lampen waren jedoch unterschiedlich. Die *Philipps 40 W-R 35* besitzt laut Produktdatenblatt im Abstand von 25 cm nach IEC Standard 61228 eine Leistung von  $15,0 \text{ W/m}^2$  UV-A und  $1,35 \text{ mW/m}^2$  UV-B, die *Osram Eversun* Lampen sind laut Datenblatt beide gleich mit  $8,1 \text{ W/m}^2$  UV-A und  $0,06 \text{ W/m}^2$  UV-B. Allerdings stellte sich heraus, dass zwischen den beiden *Eversun* Typen doch ein Unterschied in der Leistung bestand. Die *Osram Eversun 40 W/79 H255* hat eine höhere Leistung als die *Osram Eversun 40 W/79 K*. Dies wurde durch Aktinometrie mit Azobenzol an den Lampen überprüft. Da ein Aktinometer nur Absolutwerte für eine Wellenlänge liefert, ist diese Methode hier nur zum qualitativen Vergleich der beiden Leuchtstoffröhren miteinander geeignet.

## Fluoreszenzspektrometer

Zur Bestimmung der Ein-Photonen-Quantenausbeuten (SPA) der Cycloreversionsreaktionen, wurde die entsprechende Dimerlösung in einer Quarzglas küvette unter Rühren mit Licht  $> 300$  nm bestrahlt. Dafür wurde sowohl ein Fluoreszenzspektrometer mit Licht der Wellenlänge 266 nm der Firma *Shimadzu*, Typ *RF 1502*, als auch eine UV-C Lampe *TUV PL-S*, 9 Watt von *Philips* verwendet.

Für die Berechnung der Quantenausbeuten  $\phi$  der Cycloreversionsreaktionen muss die Anzahl der ausgesandten Photonen bekannt sein. Diese wurde sowohl durch Aktinometrie mit Azobenzol als auch durch Messung der Photonendichte mit einer Photodiode Typ *1337-1010BQ* der Firma *Hamamatsu* durchgeführt. Bei der Aktinometrie mit Azobenzol wird die E-Z-Isomerisierung im Spektralbereich von 230 - 480 nm bei bekannter Quantenausbeute ausgenutzt. Der Reaktionsverlauf kann anhand der Absorption bei 316 nm verfolgt werden, bis der photostationäre Zustand eintritt, in dem die Umlagerung in beide Richtungen gleich schnell stattfindet. Die bis zum photostationären Zustand benötigte Zeit ermöglicht dann die Berechnung der Photonenanzahl.

Da die Aktinometrie das genauere Messverfahren, die Photodiode jedoch das zeitlich günstigere, aber fehleranfälligere ist, wurde über die Aktinometrie ein Korrekturfaktor für die Messungen an der Photodiode bestimmt; dieser betrug 1,1017.

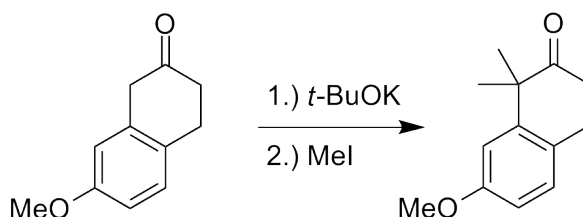
## Laser

Für die Zwei-Photonen-Absorptionsexperimente (TPA) wurde ein frequenzverdoppelter *Infinity 40-100 Nd:YAG*-Laser der Firma *Coherent* verwendet. Bei einer Wellenlänge von 532 nm können Pulsfrequenzen von bis zu 100 Hz bis zu einer Pulsenergie von 250 mJ bei Pulslängen von 3 ns erhalten werden. Bei TPA induzierten Cycloreversion in Lösung wurde während der Belichtung die Reaktionslösung mit einem Magnetrührer kräftig durchmischt.

Die Energie der emittierten Strahlung wurde mit einem *Fieldmaster GS* der Firma *Coherent* und einem Messkopf *Power Meter Head, Model 80* bei 532 nm gemessen.

## 5.1.5 Synthesen

### 7-Methoxy-1,1-dimethyltetralon




---

7-Methoxy-2-tetralon	(176,2 g/mol)	5,0 g	0,028 mol	1,0 eq.
Kalium- <i>tert</i> -butanolat	(112,2 g/mol)	5,5 g	0,049 mol	1,75 eq.
Methyliodid	(141,9 g/mol)	3,6 mL	0,057 mol	2,0 eq.
<i>tert</i> -Butanol	(74,1 g/mol)	50 mL		
Tetrahydrofuran	(72,1 g/mol)	40 mL		

---

7-Methoxy-2-Tetralon wurde unter Schutzgas in THF gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Kalium-*tert*-butanolat wurde in *tert*-Butanol gelöst und portionsweise zum Tetralon hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde weitere 20 min bei 0 °C gerührt und anschließend das Methyliodid langsam zugetropft. Es wurde nochmal 20 min bei 0 °C gerührt und anschließend über Nacht auf Raumtemperatur aufgewärmt.

Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter Ammoniumchloridlösung beendet. Organische und wässrige Phase wurden getrennt und die organische zweimal mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Das sehr lichtempfindliche Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Silicagel mit Pentan/Essigsäureethylether (15:1) aufgereinigt ( $R_f$ -Wert = 0,25 in 8:1 Pentan/Essigsäureethylether). Man erhielt einen weißen Feststoff, die Ausbeute betrug 4,4 g (79%).

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

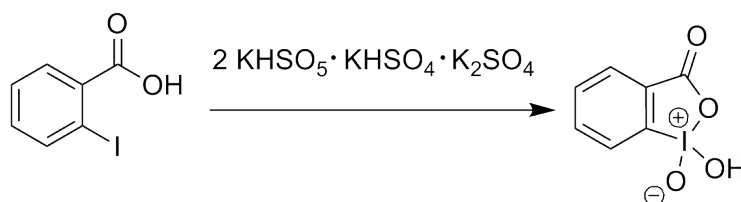
$\delta/\text{ppm}$  = 7.09 (d, 1H,  $J$  = 8.3 Hz), 6.88 (d, 1H,  $J$  = 2.6 Hz), 6.73 (dd, 1H,  $J$  = 2.6 Hz,  $J$  = 8.3 Hz), 3.81 (s, 3H), 3.03 (t, 2H,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 7.1 Hz), 2.65 (t, 2H,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 7.1 Hz), 1.42 (s, 6H)

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 213.5, 157.8, 143.9, 128.0, 126.4, 111.2, 110.4, 54.3, 46.9, 36.4, 26.7, 25.8

MS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 204,3; gemessen 204,7

## 2-Iodoxybenzoesäure

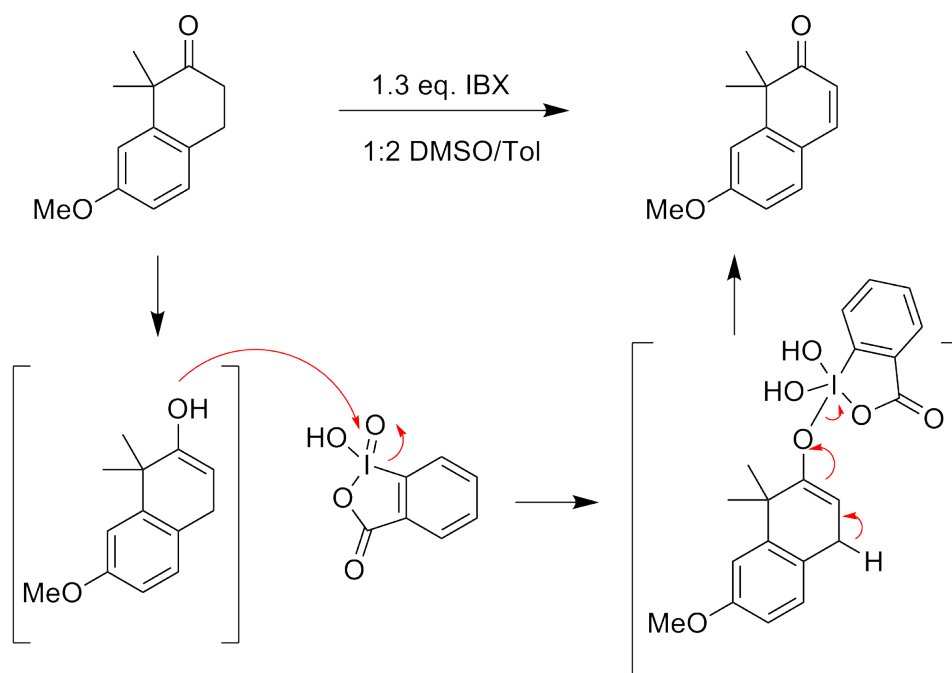



---

2-Iodbenzoesäure	(208,1 g/mol)	10,0 g	0,048 mol	1,0 eq.
Kaliummonopersulfat Tripelsalz	(614,8 g/mol)	36,2 g	0,058 mol	1,3 eq.
Wasser (dest.)	(18,0 g/mol)	130 mL		

---

Das Kaliummonopersulfat Tripelsalz wurde in 130 mL entionisiertem Wasser gelöst und die 2-Iodbenzoesäure hinzugegeben<sup>[129]</sup>. Die Lösung wurde 3 h bei 70 °C und anschließend 1,5 h bei 5 °C gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abgesaugt, einmal mit Wasser und zweimal mit Aceton gewaschen und über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. Die Ausbeute betrug 9,1 g (81%).

**7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon**


---

7-Methoxy-1,1-dimethyltetralon	(204,2 g/mol)	6,23 g	0,030 mol	1,0 eq.
2-Iodoxybenzoesäure	(280,0 g/mol)	11,2 g g	0,040 mol	1,3 eq.
Dimethylsulfoxid	(78,1 g/mol)	90 mL		
Toluol	(92,1 g/mol)	180 mL		

---

7-Methoxy-1,1-dimethyltetralon und 2-Iodoxybenzoesäure wurden in ein Lösungsmittelgemisch von Dimethylsulfoxid und Toluol (1:2) gegeben und bei 85 °C für 5 Tage kräftig gerührt<sup>[130]</sup>. Die Reaktionslösung wurde zweimal gegen 5%ige Natriumhydrogencarbonatlösung, einmal gegen Wasser und einmal gegen gesättigte Natriumchloridlösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingengt, getrocknet und über Flash- Säulenchromatographie mit Pentan/Essigsäureethylether (15:1) aufgereinigt ( $R_f$ -Wert = 0,3 in 4:1 Pentan/Essigsäureethylether). Es wurden 4,64 g (77%) eines weißen Feststoffs erhalten.

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 7.39 (d, 1H,  $J$  = 9.8 Hz), 7.26 (d, 1H,  $J$  = 8.4 Hz), 7.09 (d, 1H,  $J$  = 8.2 Hz), 6.98 (d, 1H,  $J$  = 2.4 Hz), 6.04 (d, 1H,  $J$  = 9.8 Hz), 3.86 (s, 3H), 3.04 (t, 2H,  $J$  = 6.4 Hz, 7.3 Hz), 2.66 (t, 2H,  $J$  = 6.5 Hz, 7.3 Hz), 1.46 (s, 6H)

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 144.6, 131.0, 130.0, 127.0, 122.0, 115.2, 115.0, 113.0, 111.3, 55.4, 55.2, 28.1

MS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 202,3; gemessen 203,7

CHN-Analyse:

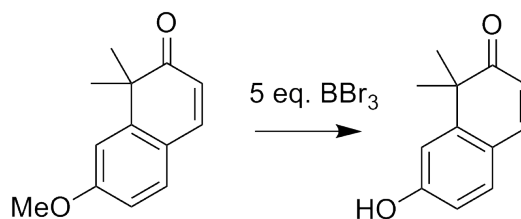
C: 77,20 (theor.) 76,92 (gemessen)

H: 6,98 (theor.) 6,94 (gemessen)

IR (KBr):

$\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$  = 2973 (m), 1648 (s), 1602 (s), 1554 (s), 1497 (w), 1458 (w), 1402 (m), 1376 (w), 1291 (s), 1229 (s), 1181 (w), 1146 (w), 1107 (m), 1074 (m), 1033 (s), 880 (w), 840 (s), 812 (w)

Smp. = 94,5 °C

**7-Hydroxy-1,1-dimethylnaphtalenon**


---

7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon	(202,2 g/mol)	1,0 g	4,95 mmol	1,0 eq.
Bortribromid	(250,5 g/mol)	25 mL	0,025 mol	5 eq.
Dichlormethan	(84,3 g/mol)	160 mL		

---

Das 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon wurde unter Schutzgas in Dichlormethan gelöst und auf -78 °C gekühlt. Dann wurde das Bortribromid zugetropft und die Reaktionslösung wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für weitere 3 Tage gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 200 mL Wasser beendet, die Phasen separiert und die wässrige Phase nochmals mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Die organischen Phasen wurden vereinigt, das Lösungsmittel abdestilliert und getrocknet. Man erhielt ein rötliches Öl in quantitativer Ausbeute.

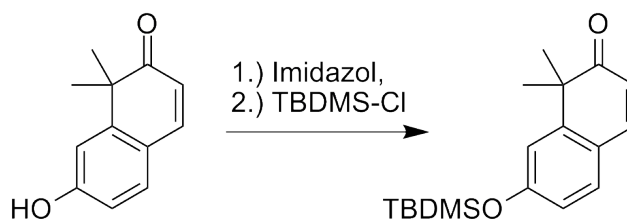
$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 7.34 (d, 1H,  $J$  = 9.8 Hz), 7.17 (t, 1H,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 8.3 Hz), 6.93 (d, 1H,  $J$  = 2.3 Hz), 6.73 (dd, 1H,  $J$  = 2.4 Hz,  $J$  = 8.3 Hz), 6.0 (d, 1H,  $J$  = 9.8 Hz), 1.40 (s, 6 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 158.4, 150.4, 145.7, 131.4, 121.7, 121.4, 113.9, 47.6, 28.1

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 188.1; gemessen 189.4

**7-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,1-dimethylnaphtalenon**


---

7-Hydroxy-1,1-dimethylnaphtalenon	(188 g/mol)	1,00 g	5,31 mmol	1,0 eq.
Imidazol	(68,1 g/mol)	1,81 g	26,6 mmol	5 eq.
<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid	(150,7 g/mol)	4,02 g	26,6 mmol	5 eq.
Tetrahydrofuran	(72,1 g/mol)	120 mL		

---

Unter Schutzgas wurden 7-Hydroxy-1,1-dimethylnaphtalenon und Imidazol in Tetrahydrofuran vorgelegt und anschließend das *tert*-Butyldimethylsilylchlorid zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht rühren gelassen. Die ausgefallenen Salze wurden abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert, das Rohprodukt in Chloroform wieder gelöst und einmal gegen gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal gegen Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Das erhaltene Rohprodukt wurde mit Methanol gewaschen und man erhielt 1,3 g (90%) eines hellbraunen Feststoffs.

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 7.38 (d, 1H,  $J$  = 9.8 Hz), 7.29 (d, 1H,  $J$  = 8.3 Hz), 6.91 (d, 1H,  $J$  = 2.3 Hz), 6.74 (dd, 1H,  $J$  = 8.2 Hz,  $J$  = 2.4 Hz), 6.04 (d, 1H,  $J$  = 9.8 Hz), 1.44 (s, 6H), 0.99 (s, 9H), 0.23 (s, 6H)

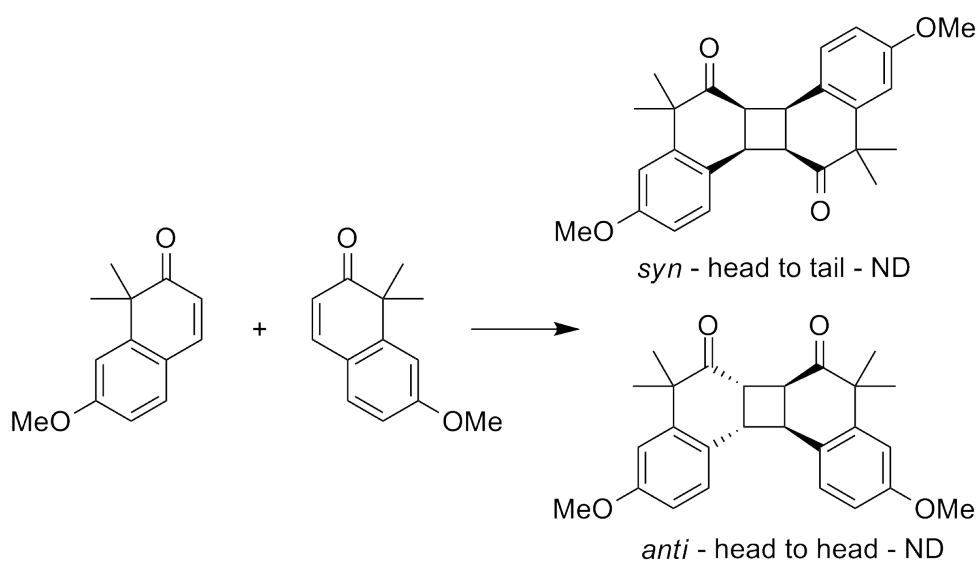


$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 203.5, 156.8, 148.9, 143.6, 129.9, 121.6, 121.1, 117.4, 117.2, 46.4, 27.0, 25.0, 24.7, 24.6, 17.3, 0.000, -4.0, -5.4, -6.2

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 302.5, gemessen 304.2

### 1,1-Dimethylnaphtalenondimere (ND)




---

7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon	(204,2 g/mol)	181 mg	0,89 mmol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	30 mg	0,16 mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	2 mL	

---

Für *syn*-head to tail Dimer wurde 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon mit Benzophenon in 2 mL Chloroform gelöst, 20 min mit Argon entgast und für 4 Tage im Photoreaktor mit Lampen des Typs *Osram Eversun 40 W/79 25X* dimerisiert, wobei ein sehr feiner weißer Feststoff aufiell. Zur Aufreinigung wurde die Produktlösung

eingengt und in 500 mL DMF erwärmt, bis sich alles gelöst hatte. Im Anschluss wurde das Produkt über die präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (1:1) getrennt. Es wurden zwei Dimere erhalten, wovon nur das eine in DMSO- $d_6$  löslich war und mittels NMR als *syn*-head to tail bestimmt werden konnte. Ausbeute: 10 mg (0,02 mmol; 3%).

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 6,90 (d, 2H,  $J$  = 2.0 Hz); 6,43 (dd, 2H,  $J$  = 2.3 Hz, 8.4 Hz); 6,02 (d, 2H,  $J$  = 8.4 Hz); 3,66 (s, 6H); 1,77 (s, 4H); 1,39 (s, 6H); 1,32 (s, 6H)

---

7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon	(204,2 g/mol)	200 mg	0,97 mmol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	18 mg	0,10 mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	2 mL	

---

Für *anti*-head to head Dimer wurde 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon mit Benzophenon in Chloroform gelöst, ebenfalls 20 min mit Argon entgast und für 8 Tage im Photoreaktor mit Lampen des Typs *Osram Eversun 40 W/79 H* dimerisiert. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert, das Rohprodukt in Acetonitril gelöst und über präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (1:1) isoliert. Man erhielt einen gelben Feststoff, die Ausbeute betrug 71 mg (0.18 mmol, 72%).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 7.40 (d, 2H,  $J$  = 8.5 Hz), 6.91 (dd, 2H,  $J$  = 2.6 Hz, 8.5 Hz), 6.87 (d, 2H,  $J$  = 2.6 Hz), 4,05 (d, 2H,  $J$  = 8.7 Hz), 3.81 (s, 6H), 3.64 (d, 2H,  $J$  = 8.7 Hz), 1.48 (s, 6H), 1.33 (s, 6H)

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

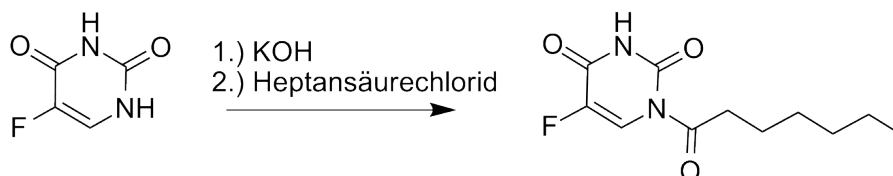
$\delta/\text{ppm} = 214.0, 160.2, 146.0, 130.2, 129.6, 118.2, 113.8, 111.4, 55.9, 48.5, 42.9, 28.5, 21.4$

IR (KBr):

$\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1} = 2966$  (s), 1714 (s), 1610 (m), 1572 (w), 1493 (m), 1466 (m), 1380 (w), 1362 (w), 1313 (w), 1282 (s), 1261 (s), 1200 (m), 1178 (w), 1143 (w), 1077 (s), 1041 (s), 867 (m), 817 (s), 546 (w), 529 (w)

Smp. = 54,0 °C

### Heptanoyl-5-Fluoruracil (H5FU)




---

5-Fluoruracil	(130,1 g/mol)	10,4 g	0,08 mol	1,0 eq.
Kaliumhydroxid	(56,1 g/mol)	4,48 g	0,08 mol	1,0 eq.
Heptansäurechlorid	(148,6 g/mol)	13,4 mL	0,09 mol	1,1 eq.
Methanol	(32,0 g/mol)	400 mL		
Acetonitril	(41,1 g/mol)	1 L		
Esigsäureethylester	(88,1 g/mol)	500 mL		

---

5-Fluoruracil und Kaliumhydroxid wurden in 400 mL Methanol etwa 2 Stunden kräftig gerührt.<sup>[36]</sup> Daraufhin wurde das Methanol abdestilliert, das Reaktionsgemisch getrocknet, unter Schutzgas in Acetonitril resuspendiert und auf 0 °C gekühlt. Das Heptansäurechlorid wurde langsam zugegeben und die Mischung etwa 24 Stun-

den bei Raumtemperatur rühren gelassen. Anschließend wurde das Acetonitril abdestilliert, das Rohprodukt in Essigsäureethylester, der zuvor über Molsieb getrocknet worden war, resuspendiert und abfiltriert. Das Filtrat wurde dreimal mit weiterem Essigsäureethylester gewaschen und verworfen. Die Lösung wurde eingeeengt und man erhielt 18,4 g (95%) eines weißen Feststoffes.

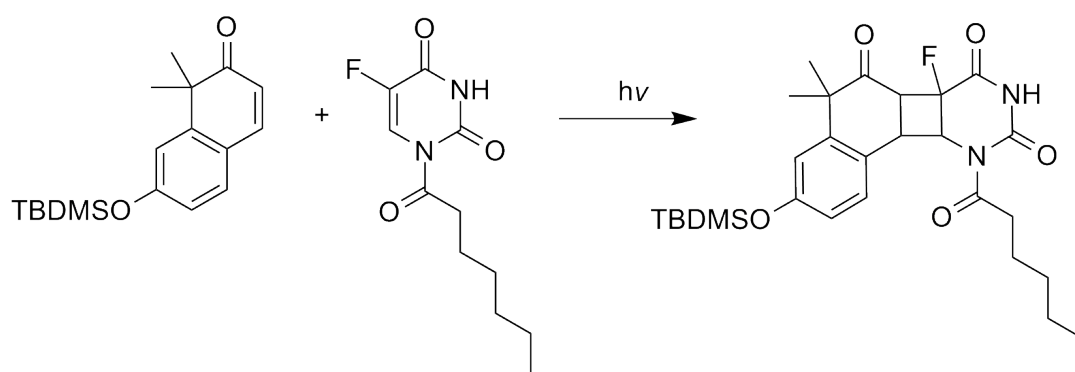
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO):

$\delta/\text{ppm} = 3.44$  (s, 1H),  $3.48$  (s, 1H),  $7.74$  (d, 1H)

MS ( $m/z$ ) =  $[M+]$  berechnet für  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_3$  (H5FU), 242.25; gemessen 243.02

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M+]$  berechnet für  $\text{C}_4\text{H}_3\text{FN}_2\text{O}_2$  (5FU), 130.08; gemessen 129.04

**7-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,1-dimethylnaphtalenon –  
Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (NKD)**




---

Heptanoyl-5-Fluoruracil	(242,3 g/mol)	15,0 g	0,062 mol
7- <i>tert</i> -Butyldimethylsilyloxy- 1,1-dimethylnaphtalenon	(302,5 g/mol)	1,2 g	0,004 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	0,12 g	0,659 mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	80 mL	

---

Das Heptanoyl-5-Fluoruracil wurde mit dem 7-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,1-dimethylnaphtalenon und Benzophenon in 80 mL Chloroform gelöst. Die Lösung wurde in 8 verschließbare Pyrex-Reagenzgläser aufgeteilt, 15 min mit Argon entgast und im Photoreaktor 3-5 Tage mit *Osram Eversun 40 W/79 25X* UV-Röhren unter Rühren belichtet. Das Dimer wurde über die präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (1:1) gereinigt, nachdem der Überschuss H5FU durch Hydrolyse der Schutzgruppe in Acetonitril/Wasser (1:1) bei 50 °C und Abfiltrieren des unlöslichen 5FUs entfernt worden war.

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 8.35 (s, 1H), 7.27 (m, 1H), 6.84 (m, 2H), 5.40 (q, 1H,  $J$  = 8.7 Hz,  $J$  = 6.5 Hz), 4.23 (d, 1H,  $J$  = 8.6 Hz), 2.98 (m, 3H), 1.64 (s, 6H), 1.30 (s, 8H), 1.0 (s, 9H), 0.87 (m, 3H), 0.23 (s, 6H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

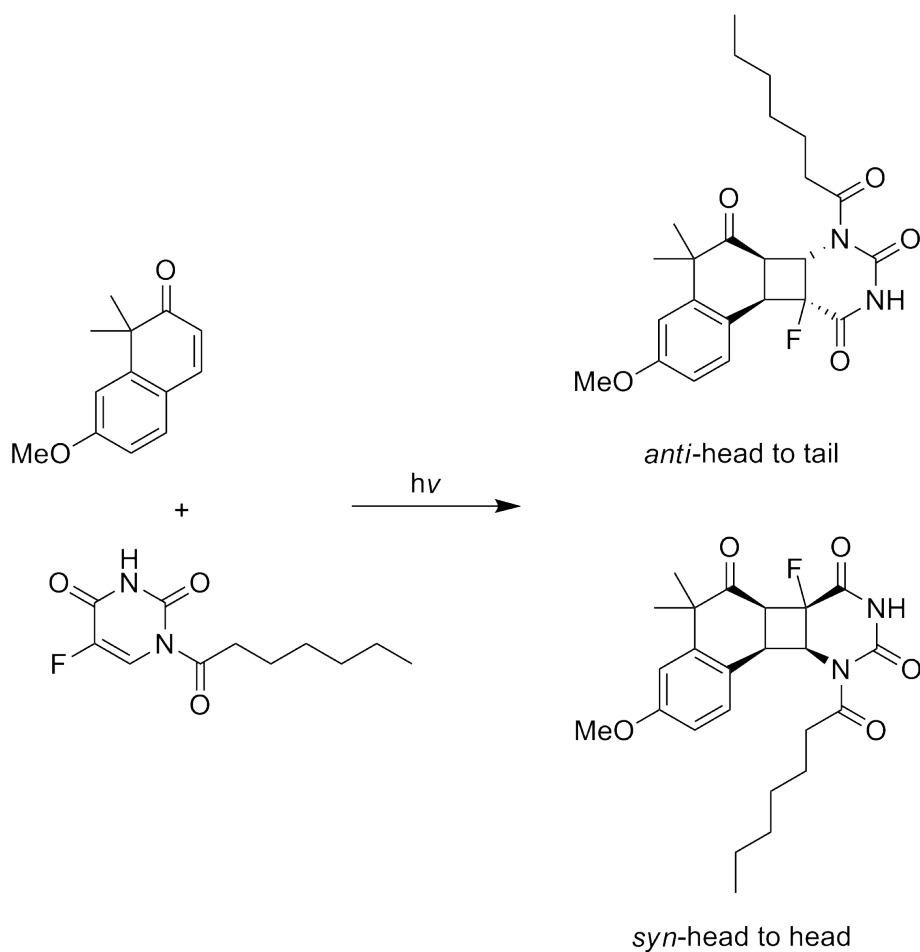
$\delta/\text{ppm}$  = 207.5, 173.7, 160.2, 148.8, 144.4, 132.3, 132.2, 117.3, 112.5, 112.2, 55.5, 55.18, 46.6, 41.4, 41.1, 38.9, 31.6, 29.5, 28.8, 24.5, 24.5, 22.6, 14.1, 1.1

$^{19}\text{F}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = -155.6

LCMS ( $m/z$ ) =  $[\text{M}^+]$  berechnet 544.7; gemessen 543.7

### 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (NKD-OMe)




---

Heptanoyl-5-Fluoruracil	(242,3 g/mol)	15,0 g	0,062 mol
7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon	(202,2 g/mol)	1,2 g	0,006 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	0,12 g	0,659 mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	80 mL	

---

Analog der Vorschrift für NKD (s. Kap. 5.1.5) wurde auch die Dimerisierung von 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon mit H5FU durchgeführt.

Abhängig von den verwendeten Lampen ergaben sich zwei unterschiedlich konfigurierte Hauptprodukte. Mit *Osram Eversun 40 W/79 25X* erhielt man *syn*-head to head-Kreuzdimer bei 3-5 Tagen Bestrahlungszeit, mit *Osram Eversun 40 W/79 H anti*-head to tail-Kreuzdimer bei 1-3 Tagen Bestrahlungszeit. Beide wurden gleichermaßen über die präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (1:1) gereinigt, nachdem der Überschuss H5FU durch Hydrolyse der Schutzgruppe in Acetonitril/Wasser (1:1) bei 50 °C und Abfiltrieren des unlöslichen 5FUs entfernt worden war. Die Konfiguration der Dimere wurde über 2D-NMR bestimmt.

#### ***syn*-head to head-NKD-OMe**

gelber Feststoff: Smp = 149,5 °C

Ausbeute: 602 mg (23%)

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 8.03 (s, 1H), 7.34 (dd, 1 H,  $J$  = 3.7, 8.4 Hz), 6.93 - 6.87 (m, 2H), 5.38 (ddd, 1H,  $J$  = 15.2, 8.7, 1.2 Hz), 4.25 (dd, 1H,  $J$  = 8.6, 0.6 Hz), 3.85 (s, 3 H), 3.08 - 2.79 (m, 3H), 1.67 (s, 6H), 1.32 - 1.25 (m, 8 H), 0.89 - 0.85 (m, 3 H)

#### ***anti*-head to tail-NKD-OMe**

gelbes Öl

Ausbeute: 634 mg (24%)

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 8.01 (s, 1H), 7.34 (dd,  $J$  = 3.7, 8.3 Hz, 1H), 6.92 - 6.87 (m, 2H), 5.38 (ddd,  $J$  = 15.2, 8.7, 1.2 Hz, 1H), 4.25 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.08 - 2.84 (m, 3H), 1.67 (s, 6H) 1.32 (s, 8H), 0.91 - 0.84 (m, 3H)

## 2D-NMR Spektren

Die genaue Konfiguration der Dimere wurde mittels 2D-NMR-Messungen bestimmt. Es wurden sowohl COSY- als auch NOESY-Messungen durchgeführt. Entscheidende Signale sind in den Spektren durch Kreise markiert.

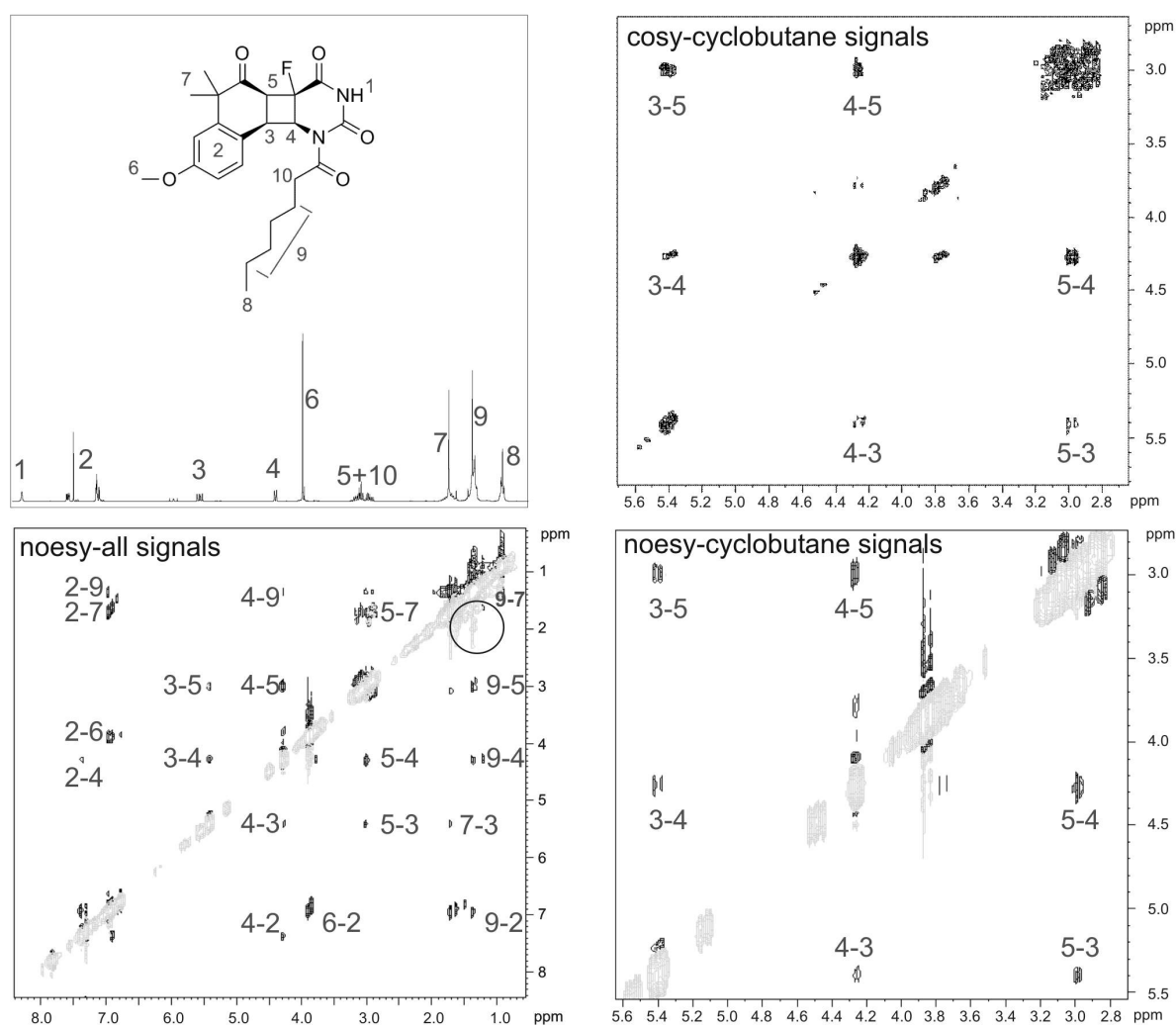
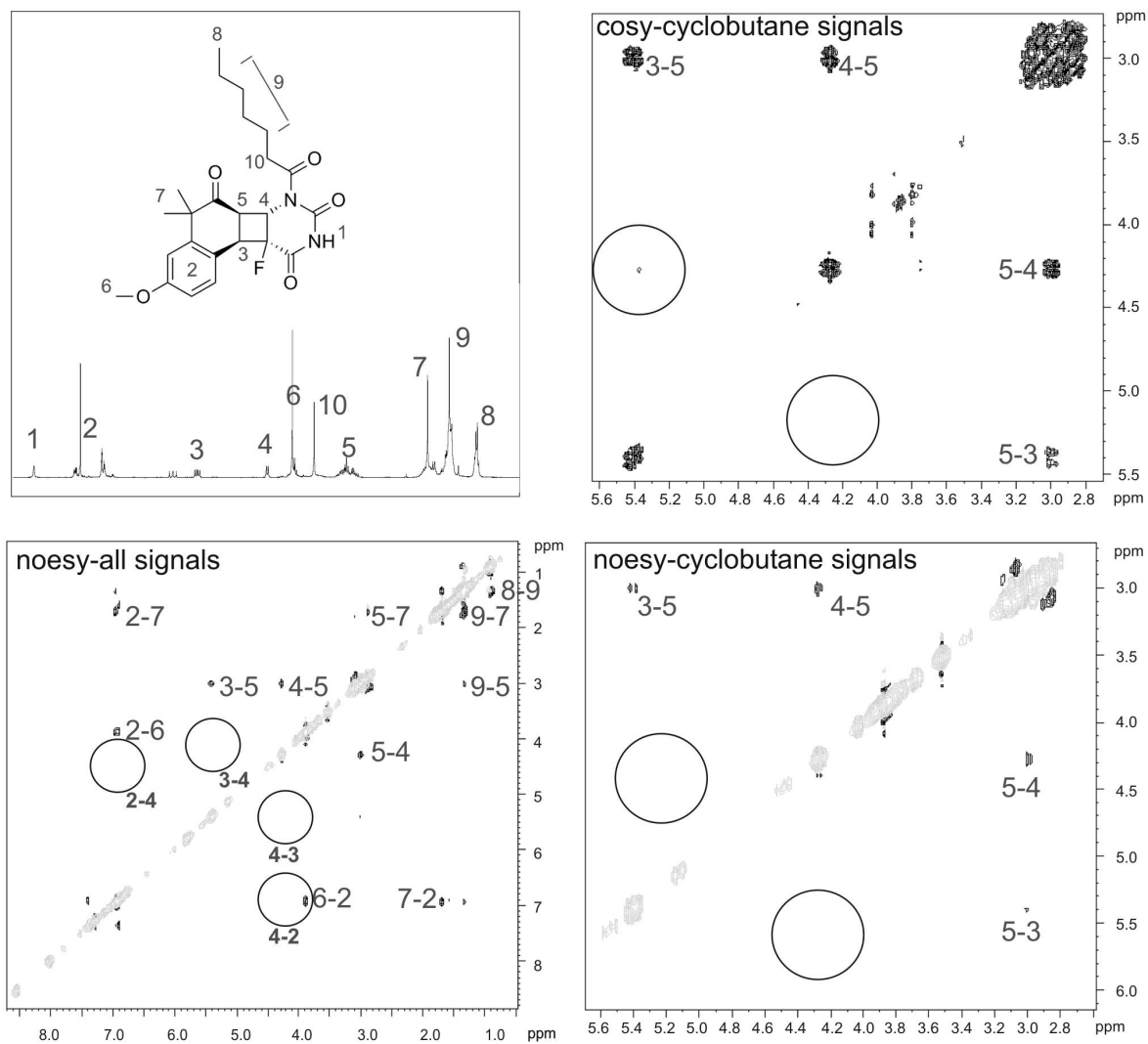


Abbildung 5.2: 2D Spektren *syn*-head to head-NKD



Abbildung 5.3: 2D Spektren *anti*-head to tail-NKD

### Thermische Spaltungsreaktion mit NKD-OMe

Zur Untersuchung der thermischen [2+2]-Cycloreversion wurde die jeweilige Probe in einem HPLC-Vial in Acetonitril oder Methanol gelöst, fest verschlossen und bei der zu untersuchenden Temperatur inkubiert. Anschließend wurde überprüft ob die Lösungsmittelmenge nach der Reaktion noch konstant war, ansonsten wurde auf die Menge von vor der Inkubation aufgefüllt, um die HPLC Signale direkt miteinander vergleichen zu können.

Für den großen Ansatz zur Produktaufklärung wurden 200 mg *syn*-head to head-NKD-OMe bei 140 °C für mehrere Stunden inkubiert, bis in den für die analytische HPLC entnommenen Proben vollständiger Umsatz nachzuweisen war. Die Produkte **1-3** wurden durch präparative HPLC (9:11 Acetonitril/Wasser) isoliert und direkt im NMR analysiert. Das 7-Methoxy-1,1-dimethyltetralon (**4**) wurde wegen seiner Lichtinstabilität nicht in ausreichenden Mengen für NMR Experimente erhalten und wurde deshalb über LCMS im direkten Vergleich zum 7-Methoxy-1,1-dimethyltetralon aus der Synthese identifiziert.

**1:** 5FU:

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz, DMSO):

$\delta/\text{ppm}$  = 3,44 (s, 1H); 3,48 (s, 1H); 7,74 (d, 1H)

LCMS ( $m/z$ ) =  $[\text{M}^+]$  berechnet 130.08; gemessen 129.04

**2:** 3-(4-methoxy-2-(prop-1-en-2-yl)phenyl)acrylaldehyde:

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz, DMSO):

$\delta/\text{ppm}$  = 1.45 (s, 3H); 3.82 (s, 3H); 6.82 (s, 1H); 6.87 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 1H); 6.91 (dd,  $J$  = 2.2 Hz, 8.4 Hz, 1H); 7.10 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H); 7.16 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H); 7.34 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H); 8.40 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H); 11,03 (s, 1H)

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 202.10; gemessen 203.50

3: 7-Methoxy-1,1-dimethylnaphthalenon:

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):

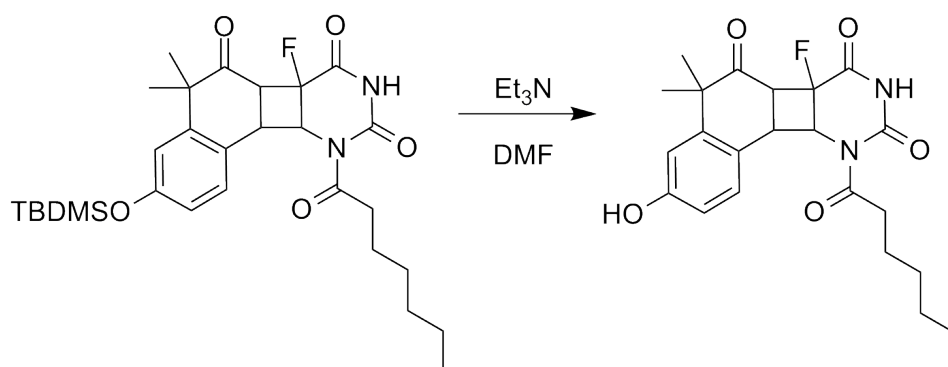
$\delta$ /ppm = 7.39 (d,  $J$  = 9.8 Hz, 1H); 7.26 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H); 7.09 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H); 6.98 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H); 6.04 (d,  $J$  = 9.8 Hz, 1H); 3.86 (s, 3H); 3.04 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 7.3 Hz, 2H); 2.66 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 7.3 Hz, 2H); 1.46 (s, 6H)

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 202.10; gemessen 203.11

4: 7-Methoxy-1,1-dimethyltetralon:

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 204.12; gemessen 203.51

### 7-Hydroxy-1,1-dimethylnaphtalenon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (NKD-OH)




---

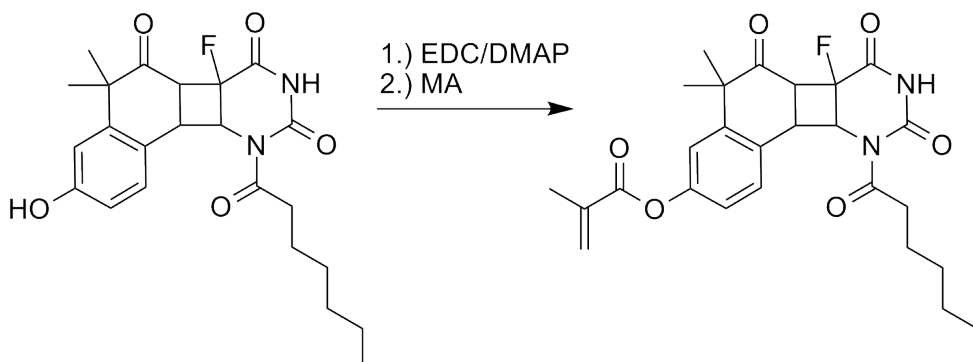
NKD	(544,7 g/mol)	40,0 mg	0,073 mmol	1,0 eq.
Triethylamin	(101,2 g/mol)	83 $\mu$ L	0,587 mmol	8,0 eq.
Dimethylformamid	(73,1 g/mol)	1 mL		

---

Zur Entfernung der *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe wurde NKD mit Triethylamin in 1 mL Dimethylformamid bei 55 °C für 10 h gerührt. Das Produkt wurde über präparativer HPLC mit Acetonitril/Wasser (3:1) isoliert. Die Ausbeute betrug 29 mg (91%).

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 430.5; gemessen 430.6

### 7-Methacrylat-1,1-dimethylnaphtalenon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (NKD-MA)




---

NKD-OH	(430,5 g/mol)	160 mg	0,310 mmol	1,0 eq.
Ethyl-(N',N'-dimethylamino)- propylcarbodiimid (EDC)	(191,7 g/mol)	79,4 mg	0,414 mol	1,3 eq.
4-(N,N-dimethylamino)pyridin (DMAP)	(122,2 g/mol)	9,2 mg	0,075 mmol	0,3 eq.
Methacrylsäure (MA)	(86,1 g/mol)	28,3 $\mu$ L	0,335 mmol	1,1 eq.
Dichlormethan	(84,9 g/mol)	25 mL		

---

Das Dimer wurde mit EDC und DMAP in Dichlormethan unter Schutzgas bei 0 °C gelöst und die Methacrylsäure hinzugegeben. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur rühren gelassen. Die organische Phase wurde mit 5 %iger Natriumhydrogencarbonatlösung extrahiert und anschließend getrocknet. Man erhielt 198 mg (95 %) eines gelblichen Feststoffs. Neben NMR wurde das Produkt auch mittels LCMS und MS/MS Experimenten analysiert, um die Anbindung der Methacrylsäure auf Seiten des 1,1-Dimethylnaphtalenons nachzuweisen.

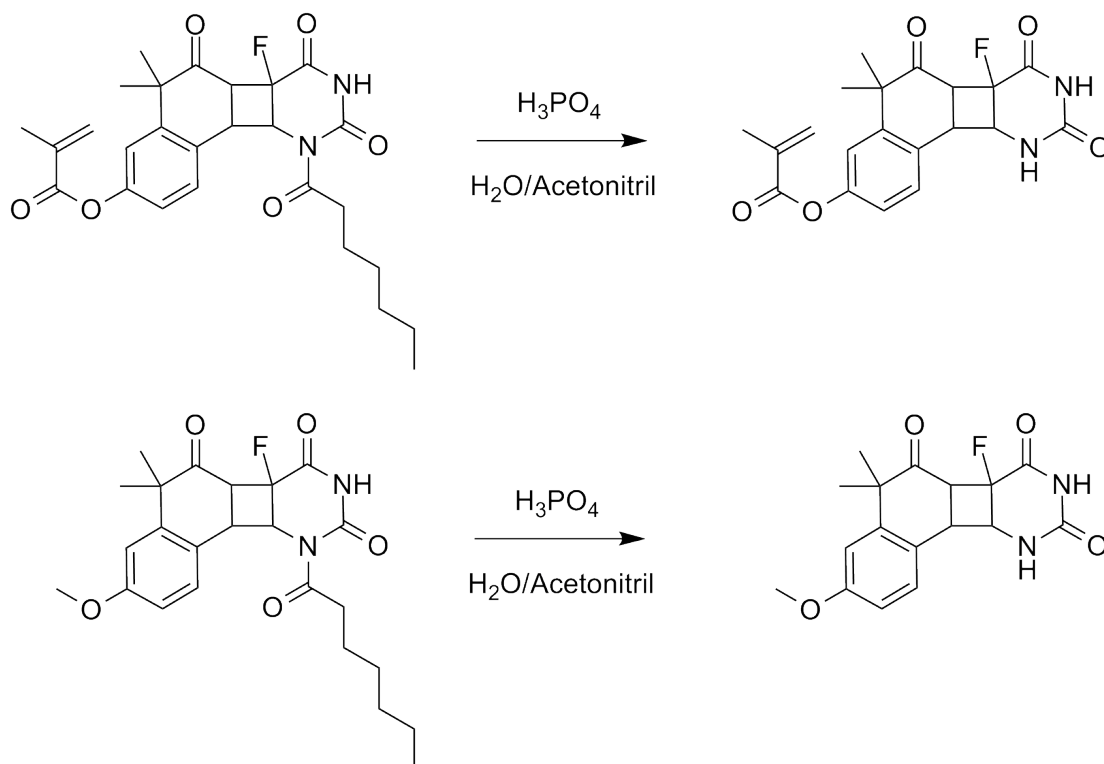
$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 7.45 (m, 1H), 7.10 (m, 2H), 6.37 (s, 1H), 5.79 (s, 1H), 5.37 (q, 1H,  $J$  = 8.7 Hz,  $J$  = 6.8 Hz), 4.29 (d, 1H,  $J$  = 8.7 Hz), 3.06 (m, 3H), 2.08 (s, 3H), 1.67 (m, 6H), 1.33 (m, 10H), 0.87 (m, 3H)

LCMS ( $m/z$ ) =  $[\text{M}^+]$  berechnet 498.5; gemessen 497.5

MS/MS auf 497.5:  $\text{M}^+$  der Fragmente = 1,1-Dimethylnaphthalenon + MA: berechnet 256.3, gemessen 257.6; 5FU: berechnet 129.1, gemessen 127.9

**7-Methacrylat-1,1-dimethylnaphthalenon – 5-Fluoruracil Kreuzdimer  
(NKD-MA-H)**



---

NKD-MA	(498,2 g/mol)	2 mg	0,0004 mmol	1,0 eq.
Phosphorsäure	(98,0 g/mol)	11 $\mu$ L	0,0002 mmol	0,5 eq.
Acetonitril	(41,1 g/mol)	0,5 mL		
entionsiertes Wasser	(18,0 g/mol)	1,0 mL		

---

Das Dimer wurde in Acetonitril gelöst und mit dem doppeltem Volumen an mit 0,5 eq. Phosphorsäure angesäuertem Wasser versehen. Die Reaktion wurde für 6 Tage bei 45-50 °C gut gerührt. Die Entschützung des 5FUs gelang in Konkurrenz zur Hydrolyse der Esterbindung an MA mit guter Selektivität. Aufgrund der geringen Mengen war ein NMR nicht möglich. Die Analytik wurde an der analytischen HPLC vorgenommen, da auch LCMS Experimente hier keine ausreichende Aussagekraft liefern können, weil die Heptanoylgruppe bei der Ionisierung grundsätzlich ebenfalls entfernt wird.

Neben der Heptanoylgruppe kann auch die MA-Bindung teilweise hydrolysiert werden. Bei relativ niedrigen Temperaturen ist die Hydrolyse der Amidbindung stark bevorzugt und man erhält bei 45-50 °C etwa zu 70 % Entschützung der Heptanoylgruppe. Ab 50 °C reduziert sich die Ausbeute auf etwa 50 % und auch die MA-Esterbindung wird hydrolysiert. Je niedriger die Reaktionstemperatur liegt, desto mehr wird die Hydrolyse der Amidbindung bevorzugt, wobei sich die Reaktionszeit allerdings verlängert. Die Reaktionsverhältnisse konnten anhand der charakteristischen DAD-Signale und Retentionszeiten bestimmt werden (s. Abb. 5.4). Die Reaktion wurde ebenfalls an einem größeren Ansatz NKD-OMe getestet und ein NMR aufgenommen. Die Reaktionstemperatur von 45-50 °C ist ein guter Mittelweg zwischen Selektivität und möglichst kurzer Reaktionszeit.

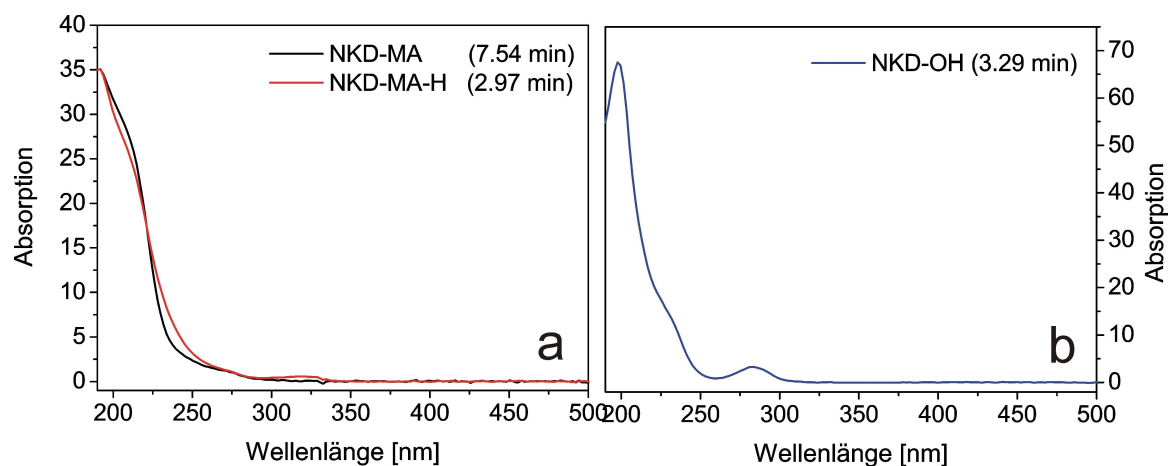
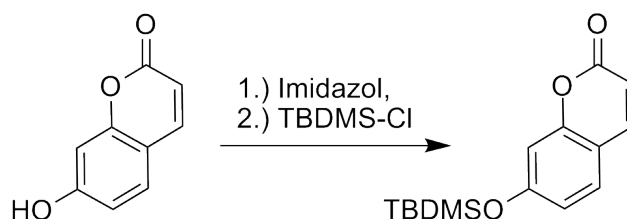


Abbildung 5.4: Signal und Retentionszeiten des Edukts und der möglichen Produkte der Heptanoylentschützung des Dimers (a) Edukt und NKD mit hydrolysierter Amidbindung, (b) NKD mit hydrolysierter Esterbindung

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 11.03 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 7.22 (dd, 1H,  $J$  = 2.2 Hz,  $J$  = 8.3 Hz), 7.02-6.93 (m, 2H), 4.46 (dd, 1H,  $J$  = 3.9 Hz,  $J$  = 9.1 Hz), 3.92 (dt, 1H,  $J$  = 3.7 Hz, 19.5 Hz), 3.84 (s, 3H), 3.42 (t, 1H,  $J$  = 7.9 Hz), 1.51 (s, 3H), 1.31 (s, 3H)



**7-*tert*-Butyldimethylsilyloxycoumarin**


---

7-Hydroxycoumarin	(162,1 g/mol)	10,0 g	0,062 mol	1,0 eq.
Imidazol	(68,1 g/mol)	4,8 g	0,070 mol	1,1 eq.
<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid	(150,7 g/mol)	11,1 g	0,074 mol	1,2 eq.
Tetrahydrofuran	(72,1 g/mol)	300 mL		

---

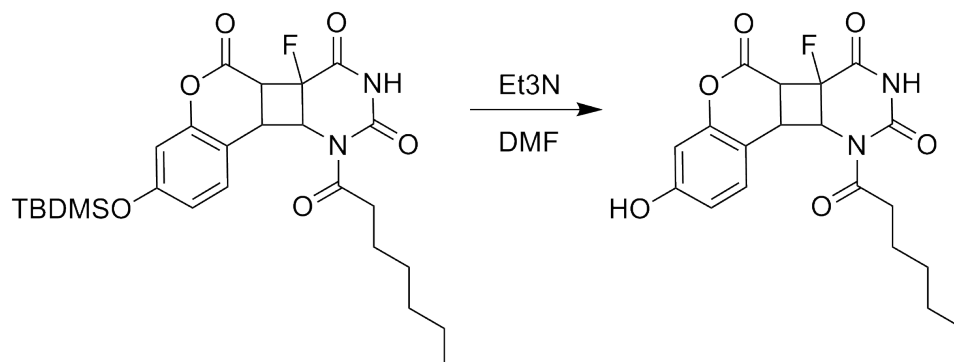
Die Synthese von 7-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-coumarin wurde entsprechend der Synthese von 7-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,1- dimethylnaphtalenon (s. Kap. 5.1.5) durchgeführt. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation in Methanol isoliert. Die Ausbeute betrug 12,0 g (70 %). Die Dimerisierung mit H5FU wurde von Philipp Behrendt mittels Laserdimerisation<sup>[75]</sup> durchgeführt.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ/ppm = 0.25 (s, 6H), 0.99 (s, 9H), 6.25 (d, 1H, *J* = 9.4 Hz), 6.77 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz), 7.34 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 7.64 (d, 1H, *J* = 9.4 Hz)

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):

δ/ppm = 161,0; 159,3; 155,5; 143,3; 128,7; 117,4; 113,3; 107,6; 25,5; 18,2

**7-Hydroxy-coumarin – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (CoumKD-OH)**

7-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-

coumarin – Heptanoyl-5-Fluoruracil-

Kreuzdimer (CoumKD)

(518,7 g/mol) 285,0 mg 0,549 mmol 1,0 eq.

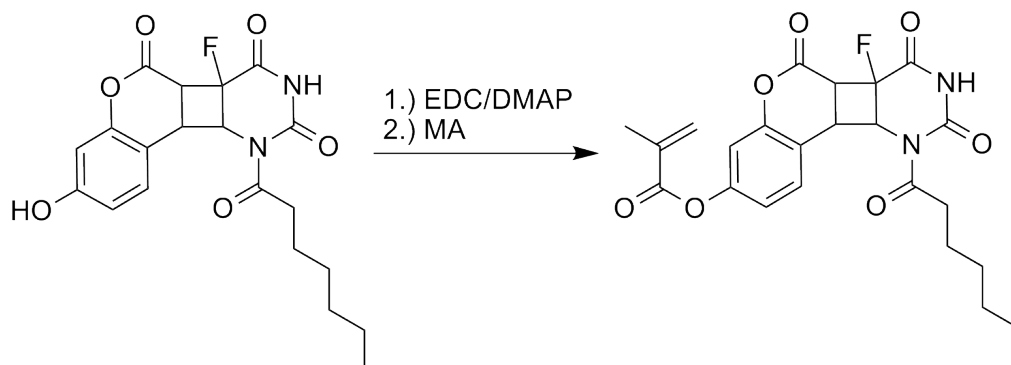
Triethylamin

(101,2 g/mol) 320,0  $\mu$ L 2,194 mmol 4,0 eq.

Dimethylformamid

(73,1 g/mol) 3,0 mL

Zur Entfernung der *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe wurde das CoumKD mit Triethylamin in 3 mL Dimethylformamid bei 45 °C für 10 h gerührt. Das Produkt wurde über präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (3:2) isoliert. Die Ausbeute betrug 90 mg (41%).

**7-Methacrylat-coumarin – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (CoumKD-MA)**


---

CoumKD-OH	(404,4 g/mol)	122,0 mg	0,302 mmol	
EDC	(191,7 g/mol)	86,6 mg	0,453 mmol	1,5 eq.
DMAP	(122,2 g/mol)	11,1 mg	0,091 mmol	0,3 eq.
Methacrylsäure (MA)	(86,1 g/mol)	27,7 $\mu$ L	0,332 mmol	1,1 eq.
Dichlormethan	(84,9 g/mol)	15,0 mL		

---

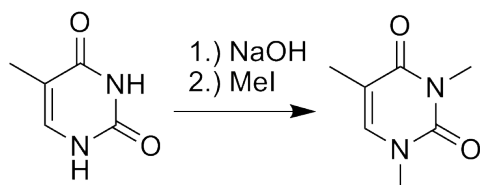
Die Anbindung der Methacrylsäure wurde entsprechend der Vorschrift für NKD-MA (s. Kap. 5.1.5) durchgeführt. Die Ausbeute betrug 122 mg (85%). Das Produkt wurde ebenfalls mittels LCMS und MS/MS Experimenten analysiert, um die Anbindung der Methacrylsäure auf Seiten des 7-Hydroxycoumarins nachzuweisen.

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 472,5; gemessen 471,9

MS/MS auf 471,9:  $[M^+]$  der Fragmente

Coumarin + MA: berechnet 230,2, gemessen 230,5;

5FU: berechnet 130,1, gemessen 130,1

**1,3-Dimethylthymin**


---

Thymin	(126,0 g/mol)	0,3 g	0,002 mol	1,0 eq.
Methyliodid	(141,9 g/mol)	0,56 mL	0,057 mol	3,75 eq.
Natriumhydroxid	(40,0 g/mol)	0,86 g	0,022 mol	11,0 eq.
entionsiertes Wasser	(18,0 g/mol)	10 mL		

---

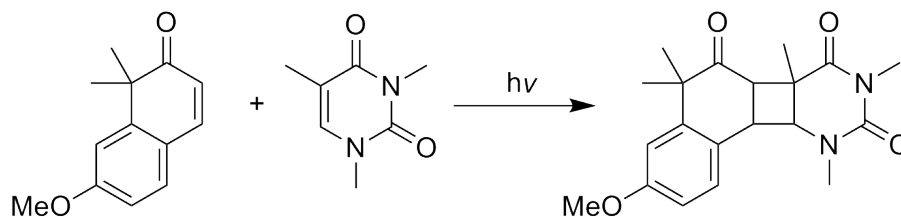
Das Natriumhydroxid wurde in Wasser gelöst und das Thymin hinzugegeben und gerührt bis alles gelöst war. Anschließend wurde das Methyliodid bei 35 °C zuge-  
tropft und die Reaktionslösung etwa 10 Stunden weitergerührt. Die wässrige Phase  
wurde zweimal mit Chloroform extrahiert und verworfen, die organische Phase mit  
Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Man erhielt 1,6 g (64%)  
eines weißen Feststoffes.

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 6.98 (d, 1H,  $J$  = 1.2 Hz), 3.35 (d; 6H;  $J$  = 3.7 Hz ), 1.92 (d; 3H;  $J$  = 1.2 Hz)

$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 138.8, 108.6, 36.6, 27.9, 12.9

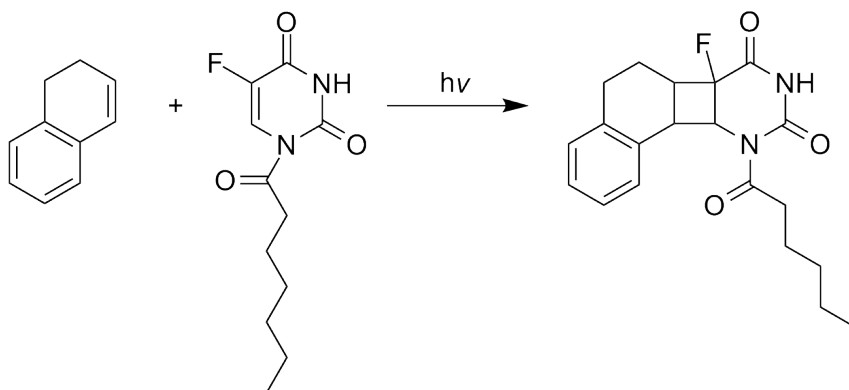
**7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon – 1,3-Dimethylthymin Kreuzdimer (TKD)**


---

7-Methoxy-1,1-dimethylnaphtalenon	(202,2 g/mol)	30 mg	0,148 mmol
Dimethylthymin	(154,2 g/mol)	2 g	0,013 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	3,0 mg	0,016 mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	2,0 mL	

---

Die Monomere wurden mit Benzophenon in Chloroform gelöst, entgast und für 7 Tage im Photoreaktor mit Lampen des Typs Eversun 40 W/79 H bestrahlt. Die entstehende Dimerbande wurde mittels analytischer HPLC in Methanol/Wasser (3:1) verfolgt, die Retentionszeit betrug 7,7 min. Anschließend wurde die Probe direkt zum thermischen Stabilitätstest weiterverwendet und die Inkubation bei 140 °C zeigte thermische Instabilität, weshalb die Synthese nicht weiterverfolgt wurde.

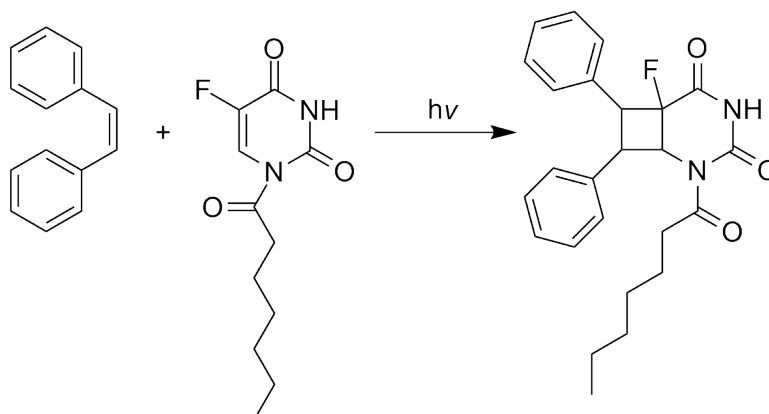
**1,2-Dihydronaphtalen – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (HKD)**


---

1,2-Dihydronaphtalen	(130,2 g/mol)	30,2 mg	0,230 mol
Heptanoyl-5-Fluoruracil	(242,3 g/mol)	3,0 g	0,012 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	1,0 mg	0,005 mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	2 mL	

---

Die Dimerisierung wurde wie in Kap. 5.1.5 beschrieben angesetzt und für 7 Tage im Photoreaktor bestrahlt. Die entstehende Dimerbande wurde mittels analytischer HPLC in Methanol/Wasser (7:3) verfolgt, die Retentionszeit betrug 11,7 min. Anschließend wurde die Probe zum thermischen Stabilitätstest weiterverwendet und die Inkubation bei 140 °C zeigte thermische Instabilität, weshalb die Synthese nicht weiterverfolgt wurde.

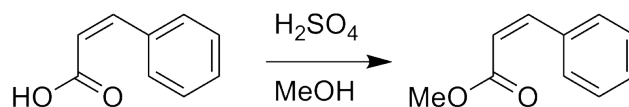
**Stilben – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (SKD)**


---

Stilben	(130,2 g/mol)	30,2 mg	0,230 mol
Heptanoyl-5-Fluoruracil	(242,3 g/mol)	3,0 g	0,012 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	1,0 mg	0,005 mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	2 mL	

---

Die Dimerisierung wurde wie in Kap. 5.1.5 beschrieben angesetzt und für 3 Tage im Photoreaktor bestrahlt. Die entstehende Dimerbande wurde mittels analytischer HPLC in Acetonitril/Wasser (3:1) verfolgt. Die Retentionszeit betrug 8,6 min. Anschließend wurde die Probe zum thermischen Stabilitätstest weiterverwendet. Die Inkubation bei 140 °C zeigte keine Abnahme der Dimerbande.

**Zimtsäuremethylester**


---

Zimtsäuremethylester	(148,1 g/mol)	0,5 g	0,003 mol	1,0 eq.
konz. Schwefelsäure	(98,1 g/mol)	0,5 mL	0,009 mol	3,0 eq.
Methanol	(32,0 g/mol)	50 mL		

---

Die Zimtsäure wurde in Methanol gelöst und 0,5 mL Schwefelsäure hinzugegeben. Die Reaktion wurde auf 50 °C erwärmt und 2 Stunden rühren gelassen. Anschließend wurde die Lösung mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und das ausgefallene Salz abfiltriert. Das Methanol wurde abdestilliert und man erhielt einen weißen Feststoff. Die Ausbeute betrug 0,50 g (92%).

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm} = 7.73 - 7.70$  (m, 2H), 7,65 (d, 1H,  $J = 16.1$  Hz), 7,42 (t, 3H,  $J = 3.7, 2.7$  Hz), 6,64 (d, 1H,  $J = 16.1$  Hz), 3,72 (s, 3H)

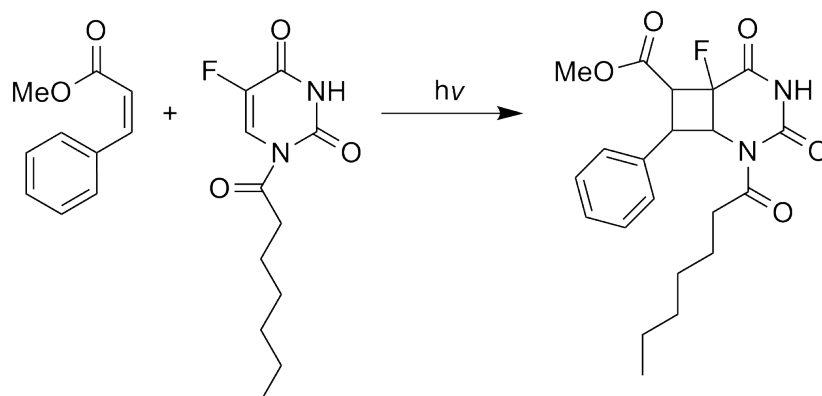
$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm} = 166.64, 144.52, 133.92, 130.48, 128.90, 128.31, 117.77, 52.94, 51.45$

IR (KBr):

$\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1} = 3014$  (w), 2958 (m), 2849 (w), 1718 (m), 1638 (m), 1577 (w), 1453 (w), 1277 (s), 1237 (s), 1081 (s), 1014 (s), 833 (w), 771 (s), 712 (w), 687 (w), 615 (m), 586 (m), 570 (m), 450 (w)



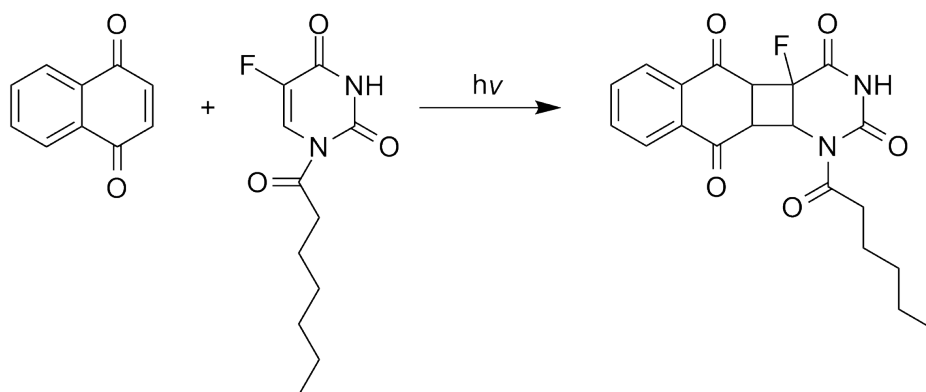
**Zimtsäuremethylester – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (ZKD)**


---

Zimtsäuremethylester	(162,1 g/mol)	15,0 mg	0,093 mmol
Heptanoyl-5-Fluoruracil	(242,3 g/mol)	1,5 g	0,012 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	~1,5 mg	0,008 mmol
Acetonitril	(41,1 g/mol)	10 mL	

---

Die Dimerisierung wurde wie in Kap. 5.1.5 beschrieben angesetzt und für 3 Tage im Photoreaktor bestrahlt. Die entstehende Dimerbande wurde mittels analytischer HPLC in Acetonitril/Wasser (3:1) verfolgt. Die Retentionszeit betrug 8,5 min. Anschließend wurde die Probe zum thermischen Stabilitätstest weiterverwendet. Die Inkubation bei 140 °C zeigte zeigte thermische Instabilität, weshalb die Synthese nicht weiterverfolgt wurde.

**1,4-Naphtochinon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (QKD)**

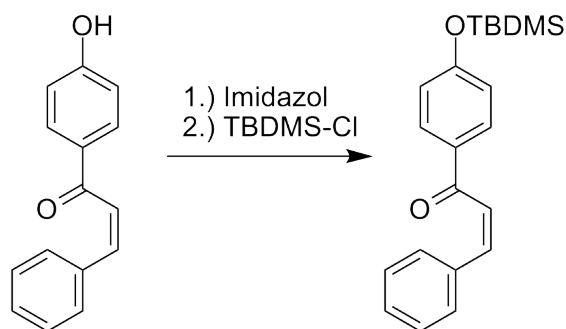

---

1,4-Naphtochinon	(158,2 g/mol)	40,0 mg	0,252 mol
Heptanoyl-5-Fluoruracil	(242,3 g/mol)	4,5 g	0,003 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	4,5 mg	0,024 mmol
Chloroform/Acetonitril/Dichlormethan		je 5 mL	

---

Die Dimerisierung wurde entsprechend der von TKD (Kap. 5.1.5) in jedem der oben angegebenen Lösungsmittel angesetzt. Die Proben wurden 7 Tage im Photoreaktor bestrahlt. Die entstehende Dimerbande wurde mittels analytischer HPLC in Methanol/Wasser (7:3) verfolgt, die Retentionszeit betrug 8,5 min. Am effektivsten kreuzdimerisierte das 1,4-Naphtochinon in Dichlormethan. Anschließend wurde die Probe zum thermischen Stabilitätstest weiterverwendet. Die Dimerbande nahm während der Inkubation bei 140 °C nicht ab und das Kreuzdimer konnte anschließend erfolgreich mittels LCMS weiter analysiert werden.

LCMS ( $m/z$ ) =  $M^+$  berechnet 400,4; gemessen 400,6

**4-*tert*-Butyldimethylsilyloxychalkon**


---

4-Hydroxychalkon	(224,3 g/mol)	5,0 g	0,022 mol	1,0 eq.
Imidazol	(68,1 g/mol)	7,47 g	0,110 mol	4,5 eq.
<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid	(150,7 g/mol)	6,72 g	0,045 mol	2,0 eq.
Tetrahydrofuran	(72,1 g/mol)	400 mL		

---

Die Synthese von 4-*tert*-Butyldimethylsilyloxychalkon wurde entsprechend der Synthese von 7-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,1-dimethylnaphtalenon (s. Kap. 5.1.5) durchgeführt. Die Ausbeute betrug 9,3 g (88 %).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 7.97 (d, 1H,  $J$  = 8.7), 7.87-7.82 (m, 1H), 7.64-7.61 (m, 2H), 7.54 (d, 1H,  $J$  = 15.7 Hz), 7.41-7.38 (m, 1H), 7.34-7.29 (m, 1H), 6.99 (d, 1H,  $J$  = 14.9 Hz), 6.92 (d, 1H,  $J$  = 8.7 Hz), 6.86 (d, 1H,  $J$  = 8.8 Hz), 0.98 (s, 9H), 0.90 (s, 6H)

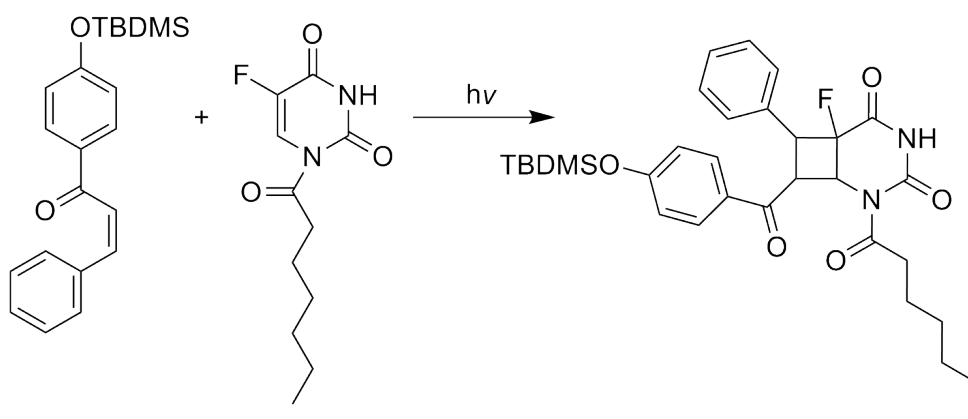
$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 143.53, 130.24, 129.84, 128.56, 128.39, 127.84, 126.12, 121.41, 119.64, 119.53, 76.78, 76.58, 76.15, 67.40, 25.20, 25.09, 25.04, -4.07, -4.87

IR (KBr):

$\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$  = 2955 (m), 2930 (m), 2886 (w), 2858 (m), 1661 (m), 1603 (s), 1509 (m), 1471 (m), 1450 (w), 1414 (w), 1335 (m), 1274 (s), 1218 (m), 1166 (m), 1033 (w), 1008 (w), 911 (s), 839 (s), 784 (m), 768 (m), 736 (w), 7171 (w), 694 (w), 671 (w), 561 (w)

#### 4-*tert*-Butyldimethylsilyloxychalkon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (CKD)



#### 4-*tert*-Butyldimethyl-

silyloxychalkon	(338,5 g/mol)	26,0 mg	0,077 mmol
Heptanoyl-5-Fluoruracil	(242,3 g/mol)	1,5 g	0,006 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	2,0 mg	0,011 mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	10 mL	

Die Testdimerisierung wurde entsprechend Kap. 5.1.5) angesetzt. Die Probe wurde 3 Tage im Photoreaktor bestrahlt. Die Dimerbande wurde mittels analytischer HPLC in Acetonitril/Wasser (3:1) verfolgt und die Retentionszeit betrug 8,5 min. Anschließend wurde die Probe zum thermischen Stabilitätstest weiterverwendet. Die Dimerbande nahm während der Inkubation bei 140 °C nicht ab und ein größerer Ansatz wurde angesetzt.

---

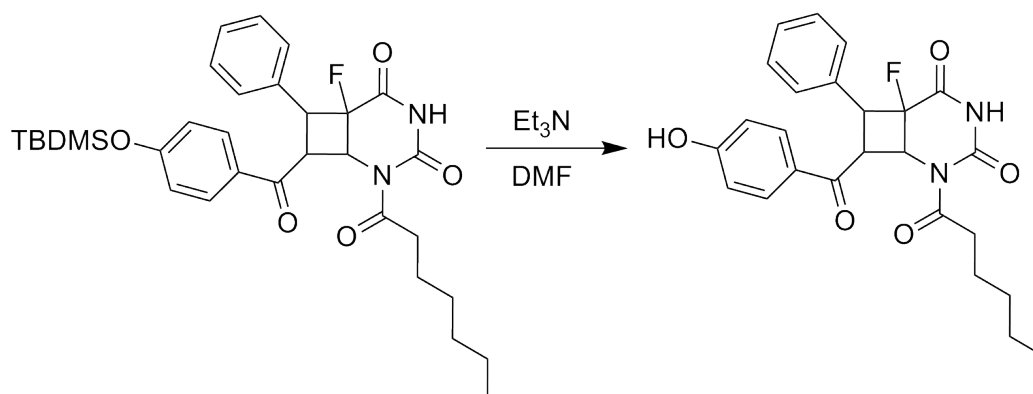
*4-tert*-Butyldimethyl-

silyloxychalkon	(338,5 g/mol)	1,2 g	0,004 mol
Heptanoyl-5-Fluoruracil	(242,3 g/mol)	24,0 g	0,099 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	0,2 g	mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	100 mL	

---

Das Heptanoyl-5-Fluoruracil wurde in Chloroform gelöst und auf 8 verschließbare Pyrex-Röhrchen verteilt, anschließend wurde in jedes 30 mg Benzophenon und 150 mg *4-tert*-Butyldimethylsilyloxychalkon gegeben. Die Reaktionslösungen wurden mit Argon für 15 min entgast und 8 Tage im Photoreaktor mit Lampen des Typs Philipps 40W-R 35 bestrahlt. Das überschüssige H5FU wurde durch Hydrolyse zu 5FU in Acetonitril/Wasser (1:1) bei 45 °C und anschließender Filtration entfernt. Das Kreuzdimer wurde mittels präparativer HPLC mit Acetonitril/Wasser (4:1) isoliert. Man erhielt 298,0 mg (13%) eines gelben Feststoffes.

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$ - Heptanoylgruppe berechnet 468,8; gemessen 468,0;  $[M^+]$  berechnet 580,8; gemessen 586,4

**4-Hydroxychalkon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (CKD-OH)**

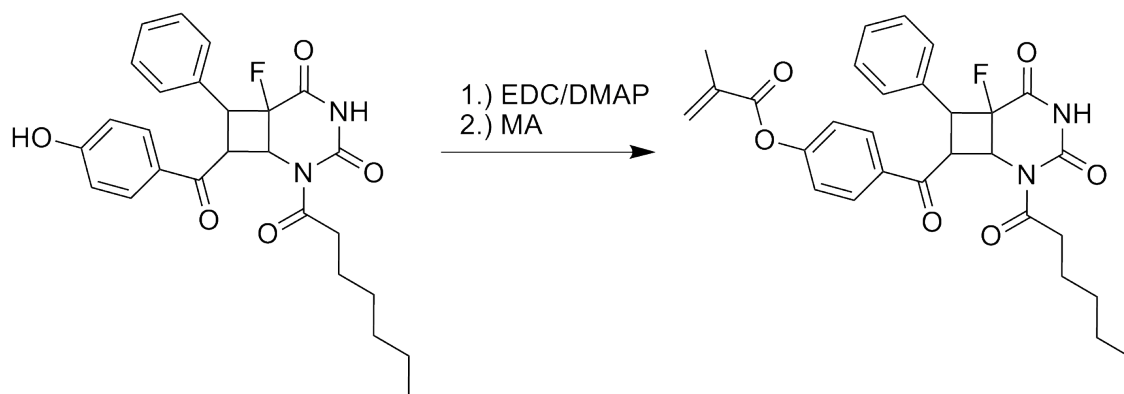

---

CKD	(580,8 g/mol)	280,0 mg	0,482 mmol	1,0 eq.
Triethylamin	(101,2 g/mol)	2,2 mL	0,015 mol	32,0 eq.
Dimethylformamid	(73,1 g/mol)	3,0 mL		

---

Zur Entfernung der *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe wurde das CKD mit 271,0  $\mu$ L Triethylamin in 3 mL Dimethylformamid bei 45 °C für 10 h gerührt. Der Verlauf der Reaktion wurde mittels analytischer HPLC in Acetonitril/Wasser (3:1) überprüft und im Laufe von 2 Tagen wurden insgesamt noch 1,93 mL Triethylamin hinzugegeben, bis der überwiegende Teil des Edukts entschützt war. Das Produkt wurde über präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (3:2) isoliert. Die Ausbeute betrug 144 mg (64%).

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 466,5; gemessen 469,0;  $[M^+]$ -Heptanoylgruppe berechnet 338,5; gemessen 339,0

**4-Methacrylatchalkon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (CKD-MA)**


---

CKD-OH	(404,4 g/mol)	144,0 mg	0,356 mmol	1,0 eq.
EDC	(191,7 g/mol)	118,0 mg	0,616 mol	1,7 eq.
DMAP	(122,2 g/mol)	16,0 mg	0,131 mmol	0,3 eq.
Methacrylsäure (MA)	(86,1 g/mol)	37,7 $\mu$ L	0,451 mmol	1,3 eq.
Dichlormethan	(84,9 g/mol)	25 mL		

---

Die Anbindung der Methacrylsäure wurde entsprechend der Vorschrift für NKD-MA (s. Kap. 5.1.5) durchgeführt. Die Reaktion verfärbte sich unerwartet orange. Es wurden durch Ausschütteln (s. Kap. 5.1.5) 100 mg eines orangenen Feststoffes erhalten. Das NMR zeigte hauptsächlich das erwartete Kreuzdimer mit angebundenem MA, die Verfärbung rührte von geringen Mengen eines Nebenproduktes her. Das Produkt wurde zusätzlich mittels LCMS Experimenten analysiert, um die Anbindung des MAs auf Seiten des Chalkons nachzuweisen.

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 7.77 (d, 1H,  $J$  = 7.7 Hz), 7.43 (t, 2H,  $J$  = 7.3 Hz), 7.35 (d, 1H,  $J$  = 6.9 Hz), 7.30 (m, 3 H), 7.23 - 7.16 (m, 2H), 6.23 (s, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.19-5.5.01 (m, 1H), 3.16 (s, 2H), 2.91 (d, 1H,  $J$  = 23.0 Hz), 2.68-2.52 (m, 4H), 2.21-2.19 (m, 2H), 2.00 (s, 3H), 1.92 (s, 3H), 1.76 (s, 2H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

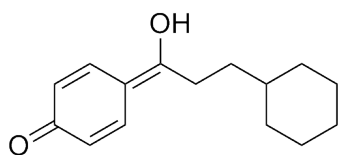
$\delta/\text{ppm}$  = 170.59, 141.71, 140.08, 136.87, 127.98, 127.80, 127.61, 127.58, 127.45, 127.26, 125.06, 124.97, 124.59, 124.24, 123.73, 106.59, 47.29, 42.18, 41.83, 39.14, 36.09, 35.47, 34.96, 30.92, 30.49, 28.69, 28.35, 27.87, 21.68, 21.47, 17.52, 16.90, 13.09, 12.99

LCMS ( $m/z$ ) =  $[\text{M}^+]$  berechnet 534,8; gemessen 535,3;  $[\text{M}^+]$  - MA - Heptanoylgruppe berechnet 352,3; gemessen 351,8

Massen der Fragmente = Chalkon + MA: berechnet 292,3; gemessen 292,5; H5FU: berechnet 242,3, gemessen 242,6

### Identifikation des Nebenproduktes

Nach der Polymerisierung konnte das unbekannte Nebenprodukt durch Inkubation des Polymermaterials in Methanol aus dem Polymer zurückgewonnen werden, da es nicht copolymerisiert worden war. Die Methanollösung wurde eingeeengt und im NMR untersucht. Es wurde neben geringen Mengen Methacrylsäure, die noch von der Polymerisation übrig waren und ebenfalls aus dem Polymer diffundierten, eine chinoide Struktur identifiziert, was auch die starke Gelbfärbung erklärt. Bei größeren Ansätzen sollte hier ein weiterer Aufreinigungsschritt über die präparative HPLC Abhilfe schaffen. Da bei der Steglich-Veresterung mit EDC/DMAP die Selektivität der Hydroxygruppe vor der potentiellen Amidbildung am H5FU gegeben ist, empfiehlt es sich diese Methode beizubehalten.



4-(3-cyclohexyl-1-hydroxypropyliden)-  
cyclohexa-2,5-dienon



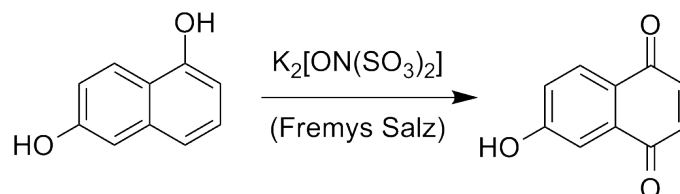
$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 6.14 (s, 1H), 5.59 (s, 1H), 4.29 (t, 2H,  $J$  = 4.8 Hz), 3.86 (t, 2H,  $J$  = 4.7 Hz), 1.95 (s, 2H), 1.38-1.24 (m, 8H), 0.93-0.84 (m, 2H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 167.74, 136.05, 131.20, 125.99, 110.69, 66.40, 61.30, 43.15, 29.68, 18.29, 13.99

### 6-Hydroxy-1,4-Naphtochinon




---

1,6-Dihydroxynaphthalin	(160,2 g/mol)	1,0 g	0,006 mol	1,0 eq.
Kaliumnitrosodisulfonat	(268,3 g/mol)	4,0 g	0,015 mol	2,5 eq.
Kaliumdihydrogenphosphat	(136,1 g/mol)	41,7 mg	0,306 mmol	0,05 eq.
Methanol	(32,0 g/mol)	70 mL		

---

Das 1,6-Dihydroxynaphthalin wurde in 70 mL Methanol gelöst, das Kaliumnitrosodisulfonat in 250 mL Wasser. Beide Lösungen wurden vereint, das Kaliumdihydrogenphosphat zugegeben und die Reaktion über Nacht rühren gelassen. Das Methanol wurde abdestilliert, der ausgefallene Feststoff abgesaugt und die wässrige Phase nochmals mit Ether extrahiert. Feststoff und Etherphase wurden vereint, das Lösungsmittel abdestilliert und der schwarze Feststoff im Hochvakuum getrocknet. Die Ausbeute betrug 1,0 g (96%).

$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz, *DMSO*):

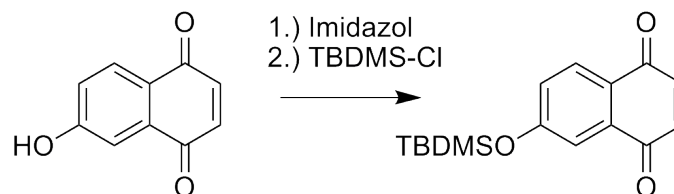
$\delta/\text{ppm} = 7.97\text{-}7.92$  (m, 1H), 7.87 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz), 7.28 (d, 1H,  $J = 2.5$  Hz), 7.18 (dd, 1H,  $J = 8.5, 2.5$  Hz), 6.98 (d, 1H,  $J = 1.9$  Hz)

$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz, *DMSO*):

$\delta/\text{ppm} = 162.69, 161.76, 138.94, 138.11, 128.79, 120.73, 111.56$

IR (KBr):

$\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1} = 3370$  (s), 1648 (s), 1625 (s), 1577 (s), 1459 (m), 1396 (m), 1317 (s), 1261 (s), 1213 (s), 1054 (w), 931 (w), 850 (w), 827 (w), 799 (w), 539 (w), 424 (m)

**6-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,4-Naphtochinon**


---

6-Hydroxy-1,4-Naphtochinon	(174,2 g/mol)	1,4 g	0,008 mol	1,0 eq.
Imidazol	(68,1 g/mol)	2,73 g	0,040 mol	5,0 eq.
<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid	(150,7 g/mol)	2,43 g	0,016 mol	2,0 eq.
Tetrahydrofuran	(72,1 g/mol)	110 mL		

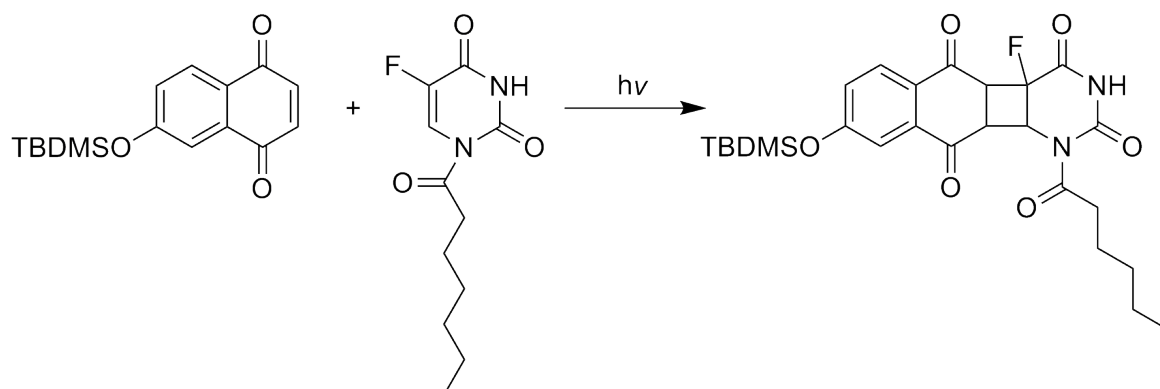
---

Die Synthese von 4-*tert*-Butyldimethylsilyloxychalkon wurde entsprechend der Synthese von 7-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,1-dimethylnaphtalenon (s. Kap. 5.1.5) durchgeführt. Die Ausbeute betrug 1,1 g (48 %).

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 8.31-8.01 (m, 1H), 7.59-7.39 (m, 1H), 7.21-7.01 (m, 2H), 6.89-6.67 (m, 1H), 0.91 (s, 9H), 0.09 (s, 6H)

**6-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,4-Naphtochinon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (QKD)**




---

6- <i>tert</i> -Butyldimethyl-			
silyloxy-1,4-Naphtochinon	(288,4 g/mol)	1,20 g	0,005 mol
Heptanoyl-5-Fluoruracil	(242,3 g/mol)	11,6 g	0,048 mol
Benzophenon	(182,2 g/mol)	0,12 g	0,659 mmol
Chloroform	(119,4 g/mol)	120 mL	

---

Das Heptanoyl-5-Fluoruracil wurde in Chloroform gelöst, auf 8 verschließbare Pyrex-Röhrchen verteilt und jeweils 15 mg Benzophenon und 150 mg 6-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1,4-Naphtochinon zugegeben. Die Reaktionsansätze wurden mit Argon für 15 min entgast und 6 Tage im Photoreaktor mit Lampen des Typs *Philipps 40W-R 35* bestrahlt. Das überschüssige H5FU wurde durch Hydrolyse und Filtration entfernt (s. Kap.5.1.5). Das Kreuzdimer wurde über präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (4:1) isoliert. Man erhielt 116,0 mg (4%) eines orangenen Öls.

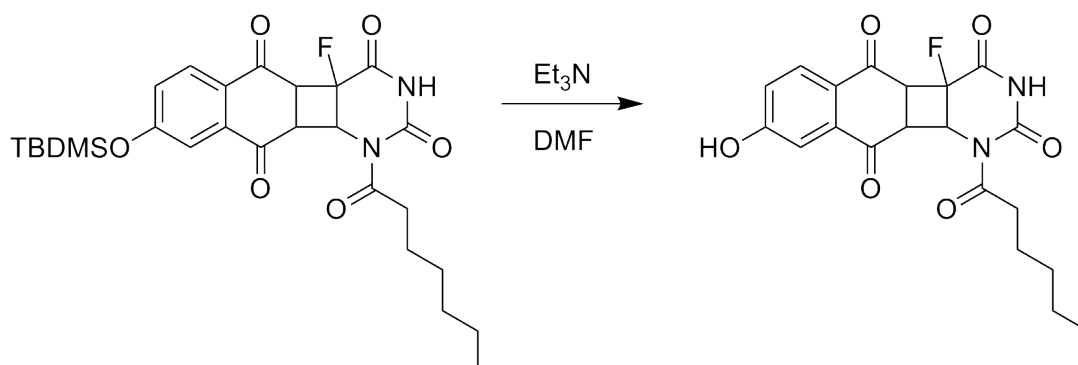
$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

$\delta/\text{ppm}$  = 7.95 (s, 1H), 7.46-7.41 (m, 1H), 7.25-7.21 (m, 2H), 5.90 (d, 1H,  $J$  = 14,9 Hz), 2.76-2.55 (m, 3H), 2.40-2.28 (m, 1H), 1.75-1.59 (m, 4H), 1.57-1.50 (m, 2H), 1.29 (s, 3H), 1.28 (s, 9H), 0.88 (s, 6H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz, DMSO):

$\delta/\text{ppm}$  = 175.33, 161.23, 148.02, 141.57, 136.71, 136.63, 128.64, 128.61, 125.73, 125.68, 62.83, 61.48, 61.118, 38.68, 31.45, 28.74, 28.63, 24.50, 22.45, 13.97

LCMS ( $m/z$ ) =  $[\text{M}^+]$  berechnet 530,7; gemessen 529,6;  $[\text{M}^+]$ - Heptanoylgruppe berechnet 418,5; gemessen 419,8

**6-Hydroxy-1,4-Naphtochinon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (QKD-OH)**


---

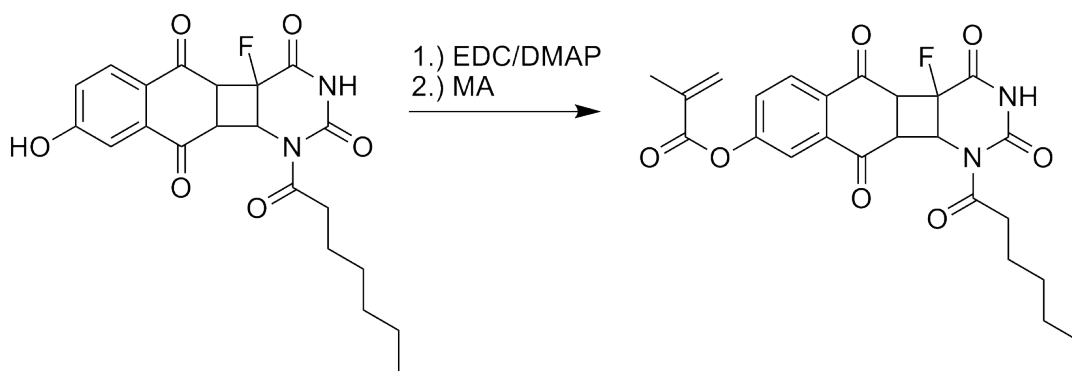
QKD	(530,7 g/mol)	106 mg	0,200 mmol	1,0 eq.
Triethylamin	(101,2 g/mol)	0,56 mL	0,038 mol	20,0 eq.
Dimethylformamid	(73,1 g/mol)	1,0 mL		

---

Zur Entfernung der tert-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe wurde das QKD mit dem Triethylamin in Dimethylformamid bei 55 °C für 24 h gerührt. Der Verlauf der Reaktion wurde mittels analytischer HPLC in Acetonitril/Wasser (3:1) überprüft. Das Produkt wurde über präparative HPLC mit Acetonitril/Wasser (4:1) isoliert, die Ausbeute betrug 55 mg (66%).

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 416,4; gemessen 414,3;  $[M^+]$ -Heptanoylgruppe berechnet 303,4; gemessen 303,5

### 6-Methacrylat-1,4-Naphtochinon – Heptanoyl-5-Fluoruracil Kreuzdimer (QKD-MA)




---

QKD-OH	(416,4 g/mol)	55,0 mg	0,132 mmol	1,0 eq.
EDC	(191,7 g/mol)	38,0 mg	0,198 mmol	1,5 eq.
DMAP	(122,2 g/mol)	5,0 mg	0,041 mmol	0,3 eq.
Methacrylsäure (MA)	(86,1 g/mol)	12,1 $\mu$ L	0,145 mmol	1,1 eq.
Dichlormethan	(84,9 g/mol)	20 mL		

---

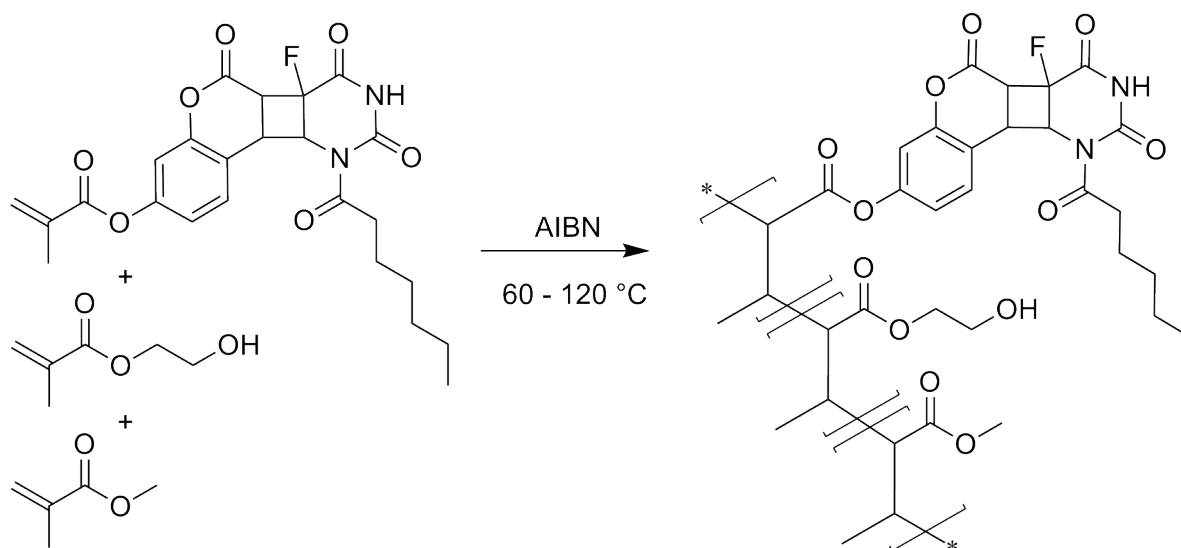
Die Anbindung der Methacrylsäure wurde entsprechend der Vorschrift für NKD-MA (s. Kap. 5.1.5) durchgeführt. Die Ausbeute betrug 60,2 mg (94%). Das Produkt wurde durch LCMS Experimenten analysiert, um die Anbindung der Methacrylsäure auf Seiten des Chalkons nachzuweisen.

LCMS ( $m/z$ ) =  $[M^+]$  berechnet 484,5; gemessen 483,3;  $[M^+]$ - Heptanoylgruppe berechnet 371,5; gemessen 372,3

Massen der Fragmente = 6-Methacrylat-1,4-Naphtochinon: berechnet 242,2; gemessen 242,0; 5FU: berechnet 130,0, gemessen 130,5

## 5.1.6 Polymerisation

### Thermische Polymerisation




---

Hydroxyethylmethacrylat (HEMA)	8,500 g
Methylmetacrylat (MMA)	1,200 g
Ethylenglykoldimethacrylat (EGDMA)	0,100 g
Azo-bis-isobutyronitril (AIBN)	0,005 g
Dimer	0,100-0,200 g

---

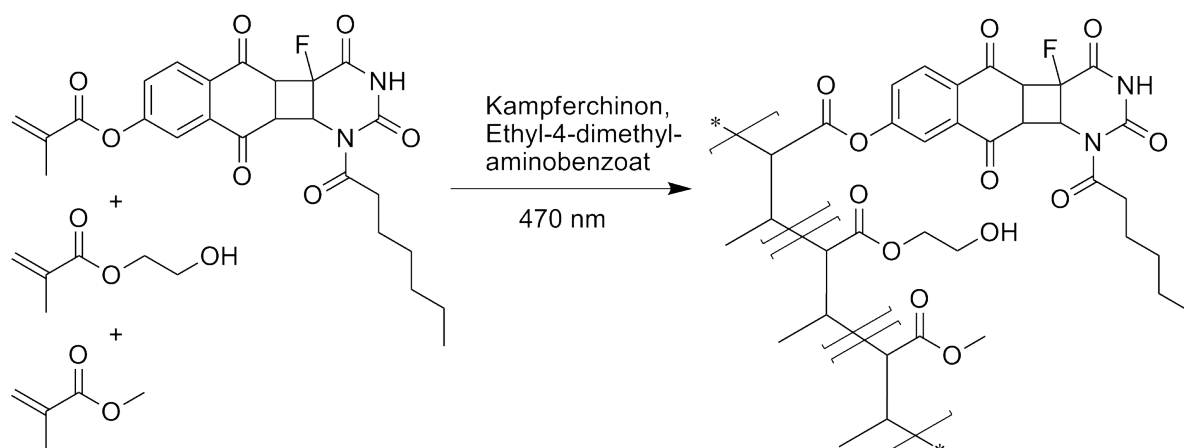
In einen Stickstoffkolben wurden zunächst HEMA, MMA, EGDMA und AIBN eingewogen und gerührt bis alles gelöst und durchmischt war. Anschließend wurde das entsprechende Dimer hinzugegeben und wieder gerührt, bis sich alles gut vermischt hatte. Die Polymerisationsmischung wurde insgesamt dreimal in flüssigem Stickstoff eingefroren, im Vakuum entgast und mit Argon wieder belüftet.



Eine Polymerisationsform aus 2 Glasplatten zwischen die ein Dichtring aus Silikon mit den Maßen 4,0 cm  $\times$  15,0 cm  $\times$  0,2 cm gepresst war, wurde 5 min mit Argon gespült. Im Anschluss wurde das Monomergemisch über einen 1  $\mu$ m Teflonfilter in die Form filtriert und die Öffnung mit Parafilm verschlossen. Die Polymerisation wurde bei 60 °C für 24 Stunden gestartet und bei 120 °C für 48 Stunden durchpolymerisiert.

Mit diesem Verfahren wurden NKD-MA- (198 mg auf 4,0 g Monomergemisch) und CoumKD-MA- (122 mg auf 4,0 g Monomergemisch) Polymere hergestellt, wobei sich herausstellte, dass zumindest für NKD die thermische Polymerisation bei diesen Temperaturen aufgrund der thermischen [2+2]-Cycloreversion, die das NKD in der Lage ist einzugehen, nicht geeignet ist.

Das Polymer wurde einer thermogravimetrische Analyse unterzogen. Es wurde kein Rückstand erhalten, der Temperaturwert für 5 % Gewichtsverlust lag bei  $T_{5\%} = 307,4$  °C.

**Photochemische Polymerisation**


---

Hydroxyethylmethacrylat (HEMA)	8,500 g
Methylmetacrylat (MMA)	1,200 g
Ethylenglykoldimethacrylat (EGDMA)	0,100 g
Kampferchinon	0,250 g
Ethyl-4-dimethylaminobenzoat	0,250 g
Dimer	0,050-0,100 g

---

In einen Stickstoffkolben wurden zunächst HEMA, MMA und EGDMA eingewogen und gerührt bis alle Komponenten gelöst und durchmischt waren. Anschließend wurde das Gemisch insgesamt dreimal in flüssigem Stickstoff eingefroren, im Vakuum entgast und mit Argon wieder belüftet.

Das Dimer wurde mit Kampferchinon und Ethyl-4-dimethylaminobenzoat in einen weiteren Stickstoffkolben eingewogen, im Hochvakuum getrocknet und mit Argon belüftet. Unter Schutzgas wurde anschließend das Methacrylatgemisch hinzugegeben und alles gründlich durchmischt. Eine Polymerisationsform aus 2 Glasplatten

zwischen die entweder ein Dichtring aus Silikon mit den Maßen  $4,0\text{ cm} \times 10,0\text{ cm} \times 0,2\text{ cm}$  oder 2 Rondenformen mit Durchmesser  $1,7\text{ cm} \times 0,2\text{ cm}$  gepresst war, wurde 5 min mit Argon gespült. Im Anschluss wurde das Gemisch in die Form gegeben und die Öffnung mit Parafilm verschlossen.

Die Polymerisation wurde mit Licht der Wellenlänge  $470\text{ nm}$  durchgeführt. Das Ethyl-4-dimethylaminobenzoat ist in der Lage unter Bildung von zwei Radikationen ein Elektron an den Photoinitiator abzugeben, was in einem weiteren Schritt durch Protonentransfer zur Bildung von zwei Radikalen führt.

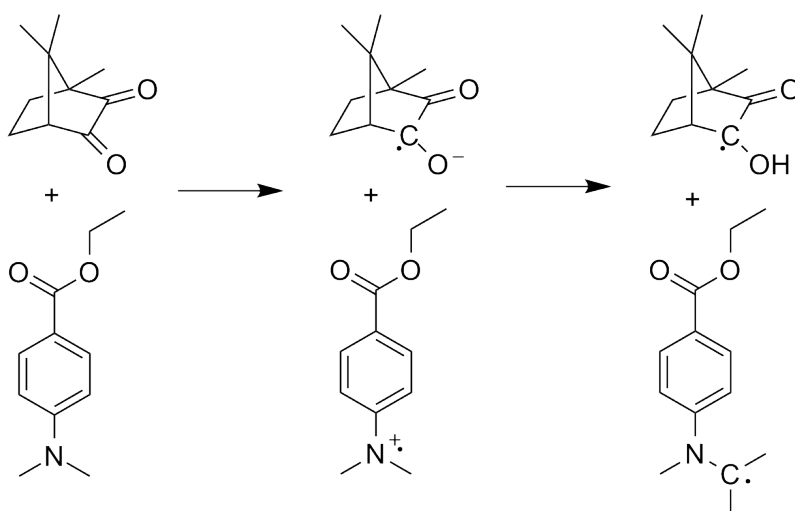


Abbildung 5.5: Elektronenübertragung und Protonentransfer der Methylgruppen von Ethyl-4-dimethylaminobenzoat auf Campherchinon

Dazu wurde eine Bestrahlungseinheit aus 49 entsprechende Dioden auf einer Gesamtfläche von  $7,0 \times 7,0\text{ cm}$  im Abstand von je  $1\text{ cm}$  zueinander von der elektronischen Werkstatt der Philipps- Universität Marburg konstruiert. Zwischen der Polymerisationsform und dem Diodenarray wurde im Abstand von  $6,5\text{ cm}$  von der Form noch eine Milchglasscheibe (einseitig sandgestrahltes Glas;  $9,0\text{ cm} \times 9,0\text{ cm} \times 0,3\text{ cm}$ ) zur Homogenisierung des Lichts aufgestellt. Der Abstand zwischen Polymerisationsform und Diodenarray betrug  $13,0\text{ cm}$ . Die Polymerisation wurde durch  $10\text{ min}$  Be-

strahlung auf halber Potentiometerstellung gestartet, 50 min ohne Belichtung stehen gelassen und anschließend 120 min bei voller Leistung durchpolymerisiert.

Mit diesem Verfahren wurden NKD-MA- (90 mg auf 6,0 g Monomergemisch), CKD-MA- (66 mg auf 0,8 g Monomergemisch) und QKD-MA- (60 mg auf 0,8 g Monomergemisch) Polymere hergestellt.

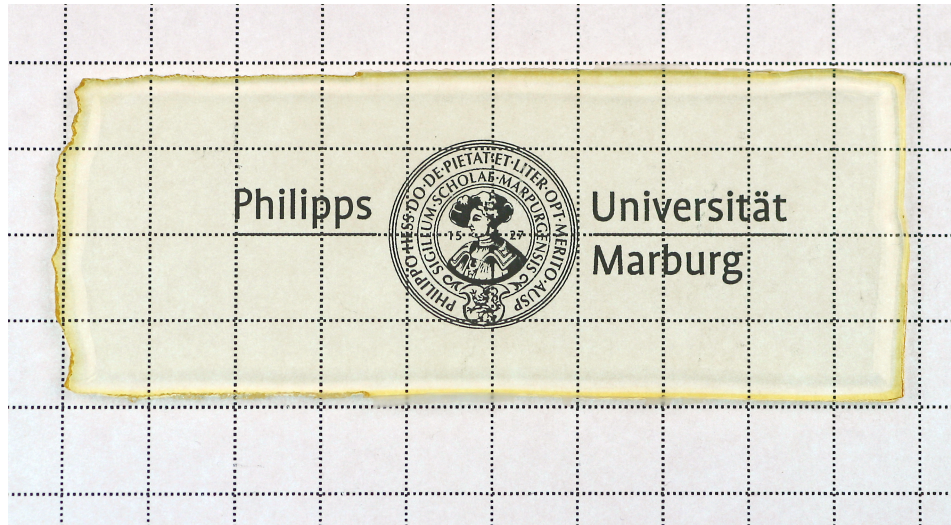


Abbildung 5.6: Wirkstoffbeladene Polymerplatte mit NKD

## **6 Abkürzungsverzeichnis**

<b>5FU</b>	5-Fluoruracil
$\phi$	SPA-Quantenausbeute
$\sigma$	TPA-Querschnitt
<b>ACN</b>	Acetonitril
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Chloroform
<b>CKD</b>	Chalkon-H5FU Kreuzdimer
<b>CoumKD</b>	Coumarin-H5FU Kreuzdimer
<b>DMF</b>	Dimethylformamid
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxid
<b>DMT</b>	Dimethylthymin
<b>E<sub>A</sub></b>	Aktivierungsenergie
<b>eq.</b>	Equivalent
<b>GCMS</b>	Gas Chromatography Mass Spectroscopy
<b>GM</b>	Goeppert-Meier
<b>H5FU</b>	Heptanoyl-5-Fluoruracil
<b>HOMO</b>	highest occupied molecular orbital
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>LCMS</b>	Liquid Chromatography Mass Spectroscopy
<b>LUMO</b>	lowest unoccupied molecular orbital
<b>ND</b>	1,1-Dimethylnaphtalenondimer
<b>NKD</b>	1,1-Dimethylnaphtalenon-H5FU Kreuzdimer
<b>ppm</b>	parts per million
<b>QKD</b>	1,4-Naphtochinon-H5FU Kreuzdimer
<b>S<sup>‡</sup></b>	Aktivierungsentropie
<b>SKD</b>	Stilben-H5FU Kreuzdimer
<b>SOMO</b>	single occupied molecular orbital
<b>SPA</b>	single photon absorption
<b>TBDMS-Cl</b>	<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid
<b>THF</b>	Tetrahydrofuran
<b>TPA</b>	two photon absorption
<b>UV/Vis</b>	Ultraviolett-visible Spektroskopie
<b>ZKD</b>	Zimtsäuremethylester-H5FU Kreuzdimer
<b>YAG</b>	Yttrium-Aluminium Granat

# Literaturverzeichnis

- [1] E. J. Hollick, D. J. Spalton, P. G. Ursell, M. V. Pande, S. A. Barman, J. F. Boyce, K. Tilling, The Effect of Polymethylmethacrylate, Silicone, and Polyacrylic Intraocular Lenses on Posterior Capsular Opacification 3 Years after Cataract Surgery, *Ophthalmology* **1999**, 106, 49–55.
- [2] D. Apple, K. Solomon, M. e. a. Tetz, Posterior capsule opacification, *Surv. Ophthalmol.* **1992**, 37, 73–116.
- [3] World Health Organisation, Prevention of Blindness and Visual Impairment: Priority eye diseases – Cataract **2011**.
- [4] R. Dahm, Zwischen glasklar und grauem Star: Augenlinse, *Biologie in unserer Zeit* **2003**, 33, 366–374.
- [5] G. Bartisch, Das ist Augendienst, M. Stockel, Dresden, **1583**.
- [6] J. M. Schmidbauer, S. K. Pandey, D. J. Apple, G. U. Auffarth, L. Ma, L. Werner, M. Escobar-Gomez, L. G. Vargas, *Morphologische Befunde menschlicher Autopsieaugen nach Implantation von Ridley-Intraokularlinsen*, Bd. 98, Springer Verlag, **2001**.
- [7] K. Pesudovs, D. B. Elliot, The evolution of cataract surgery., *Optom. Today* **2001**, 41, 30–32.
- [8] D. M. Albert, *Men of Vision. Lives of Notable Figures in Ophthalmology*, Saunders (W.B.) Co. Ltd., **1993**.
- [9] J. Daviel, A new method of curing cataract by extraction of the lens., *Memoires de L'Academie Royale de Chirurgie* **1753**, 2, 337–354.

- [10] K. K., The application of cocaine to the eye as an anaesthetic, *Wein Med Bl Oct* **1884**, 23, 1352–1355.
- [11] N. H. L. Ridley, Intraocular acrylic lenses, *Transactions of the American Ophthalmological Society* **1951**, 71, 617.
- [12] N. H. L. Ridley, Artificial intraocular lenses after cataract extraction, *St. Thomas' Hospital Reports* **1951**, 7, 12–14.
- [13] N. H. L. Ridley, Intraocular acrylic lenses after cataract extraction, *Lancet* **1952**, 19, 118–129.
- [14] N. H. L. Ridley, Further observations on intraocular acrylic lenses in cataract surgery, *Trans. Am. Academy Ophthalmol. Otolaryngol.* **1953**, 57, 98–106.
- [15] N. H. L. Ridley, Further experiences of intraocular acrylic lens surgery, *Br. J. Ophthalmol.* **1954**, 38, 156–162.
- [16] N. H. L. Ridley, Intraocular acrylic lenses - 10 years development, *Br. J. Ophthalmol.* **1960**, 44, 705–712.
- [17] A. B. und Sehbehindertenverein Berlin, <http://www.absv.de/sbs/t3.html> **03/2011**.
- [18] H.-P. Iseli, F. Hafezi, T. Seiler, Die Kataraktoperation, *Institut für Refraktive- und Ophthalmochirurgie* **2005**, 4.
- [19] S. Shizuya, M. Takeshi, Histology of anterior capsule opacification with a polyHEMA/HOHEXMA hydrophilic hydrogel intraocular lens compared to poly(methyl methacrylate), silicone, and acrylic lenses, *Journal of Cataract and Refractive Surgery* **2003**, 29(6), 1198.
- [20] N. Ibaraki, A brighter future for cataract surgery, *Nature Medicine* **1997**, 3, 958 – 960.
- [21] J.-S. Lee, C.-Y. Li, Y.-C. Lin, S.-Y. Chang, K.-K. Lin, Ripple-like intraocular lens damage from a neodymium:YAG laser, *Journal of cataract and refractive surgery* **2003**, 29(3), 621–623.



- [22] A. Trinavarat, L. Atchaneeyasakul, Neodymium:YAG laser damage threshold of foldable intraocular lenses, *Journal of Cataract and Refractive Surgery* **2001**, 27, 775–780.
- [23] L. Rickman Barga, C. Florine, R. Larson, R. Lindstrom, Retinal detachment after Neodymium:YAG-Laser posterior capsulotomy, *Am J Ophthalmol* **1989**, 107, 531–536.
- [24] A. Shaikh<sup>1</sup>, F. Shaikh, J. R. Adwani, Z. A. Shaikh, Prevalence of different Nd:YAG Laser induced complication in patients with significant posterior capsule opacification and their correlation with time duration after standard cataract surgery, *International Journal of Medicine and Medical Sciences* **2010**, 2, 12–17.
- [25] C. S. Pearlstein, S. S. Lane, R. L. Lindstrom, The incidence of secondary posterior capsulotomy in convex-posterior vs. convex-anterior posterior chamber intraocular lenses, *Journal of Cataract and Refractive Surgery* **1998**, 14(5), 578–580.
- [26] R. G. Martin, D. R. Sanders, J. Soucek, M. G. Raanan, M. DeLuca, Effect of posterior chamber intraocular lens design and surgical placement on postoperative outcome, *Journal of Cataract and Refractive Surgery* **1992**, 18(4), 333–341.
- [27] T. Nagata, I. Watanabe, Optic sharp edge or convexity: comparison of effects on posterior capsular opacification, *Japanese Journal of Ophthalmology* **1996**, 40(3), 397–403.
- [28] C. Latz, V. Migonney, G. Pavon-Djavid, Inhibition of lens epithelial cell proliferation by substituted PMMA intraocular lens, *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* **2000**, 238(8), 696–700.
- [29] C. N. Cunanan, N. M. Tarbaux, P. M. Knight, Surface properties of intraocular lens materials and their influence on in vitro cell adhesion, *Journal of Cataract and Refractive Surgery* **1991**, 17(6), 767–773.
- [30] D. R. Absolom, C. Thomson, L. A. Hawthorn, W. Zingg, A. W. Neumann, Kinetics of cell adhesion to polymer surfaces, *Journal of Biomedical Materials Research* **1998**, 22(3), 215–229.

- [31] L. Werner, J. M. Legeais, M. D. Nagel, G. Renard, Evaluation of teflon-coated intraocular lenses in an organ culture method, *Journal of Biomedical Materials Research* **1999**, 46(3), 347–354.
- [32] S. Umezawa, K. Shimizu, Biocompatibility of surface-modified intraocular lenses, *Journal of Cataract and Refractive Surgery* **19**, 1993, 371–374.
- [33] L. Hesse, L. Freisberg, H. Bienert, H. Richter, C. Kreiner, C. Mittermayer, Reduction of cataract by plasma etching of intraocular lenses. An animal experiment study, *Ophthalmolgie* **1997**, 94, 821–825.
- [34] P. Yammine, G. Pavon-Djavid, G. Helary, V. Migonney, Surface modification of silicone intraocular implants to inhibit cell proliferation, *Biomacromolecules* **2005**, 6(5), 2630–2637.
- [35] S. Kreiling, Dissertation, Universität Marburg, **2004**.
- [36] S. Härtner, Dissertation, Universität Marburg, **2006**.
- [37] H.-C. Kim, S. Härtner, M. Behe, T. Behr, N. A. Hampp, Two-photon absorption-controlled multidose drug release: a novel approach for secondary cataract treatment, *J. Biomed. Opt.* **2006**, 11, 119.
- [38] S. Härtner, H.-C. Kim, N. Hampp, Phototriggered release of photolabile drugs via two-photon absorption-induced cleavage of polymer-bound dicoumarin, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2007**, 45, 2443–2452.
- [39] S. Härtner, H.-C. Kim, N. A. Hampp, Photodimerized 7-hydroxycoumarin with improved solubility in PMMA: single-photon and two-photon-induced photocleavage in solution and PMMA films, *J. Photochem. Photobiol. A* **2007**, 187, 242–246.
- [40] S. Härtner, H.-C. Kim, N. Hampp, Single-and two-photon absorption induced photocleavage of dimeric coumarin linkers: therapeutic versus passive photocleavage in ophthalmologic applications, *J. Photochem. Photobiol. A* **2008**, 197, 239–244.

- [41] P. S. Giacomo Ciamician, Chemische Lichteinwirkungen, *Chem. Ber.* **1902**, 34, 1530–1543.
- [42] C. H. Krauch, S. Farid, G. O. Schenck, Photo-C4-Cyclodimerisation von Cumarin, *Chemische Berichte* **1966**, 99, 625–633.
- [43] R. B. Woodward, R. J. Hoffmann, The Conservation of Orbital Symmetry, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1969**, 8, 781–853.
- [44] R. B. Woodward, R. J. Hoffmann, Stereochemistry of Electrocyclic Reactions, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 395–397.
- [45] G. O. Schenck, I. von Wilucki, C. H. Krauch, Photosensibilisierte Cyclodimerisation von Cumarin, *Chemische Berichte* **1962**, 95(6), 1409–1412.
- [46] X. Yu, D. Scheller, O. Rademacher, T. Wolff, Selectivity in the Photodimerization of 6-Alkylcoumarins, *The Journal of Organic Chemistry* **2003**, 68, 7386–7399.
- [47] T. Wolff, H. Görner, Photodimerization of coumarin revisited: Effects of solvent polarity on the triplet reactivity and product pattern, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, 6, 368–376.
- [48] A. Lembares, X.-H. Hu, G. W. Kalmus, Absorption Spectra of Corneas in the Far Ultraviolet Region, *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **1997**, 38, 1283–1287.
- [49] A. W., B. M., T. Schoepf, E. Ambach, F. Katzensgraber, F. Daxecker, A. Daxer, Spectral transmission of the optical media of the human eye with respect to keratitis and cataract formation, *Documenta Ophthalmologica* **1994**, 88, 165–173.
- [50] M. Goepfert-Mayer, Über Elementarakte mit zwei Quantensprüngen, *Annalen der Physik* **1931**, 9, 273.
- [51] W. Kaiser, C. G. B. Garrett, Two-Photon Excitation in CaF<sub>2</sub>:Eu<sup>2+</sup>, *Physical Review Letters* **1961**, 7, 229.
- [52] L. Parma, N. Omenetto, Two-photon absorption of 7-hydroxycoumarin, *Chemical Physics Letters* **1978**, 54(3), 541 – 543.

- [53] J. D. Bhawalkar, G. S. He, P. N. Prasad, Nonlinear multiphoton processes in organic and polymeric materials, *Rep. Prog. Phys.* **1996**, 59, 1041–1070.
- [54] H.-C. Kim, S. Kreiling, A. Greiner, N. Hampp, Two-Photon-Induced Cycloreversion of Coumarin Photodimers., *Chemical Physics Letters* **2003**, 372, 899.
- [55] M. Goeppert-Mayer, Elementary processes with two-quantum transitions, *Ann. Phys.* **1931**, 9, 273–294.
- [56] H.-H. Perkampus, *Encyclopedia of Spectroscopy*, (Hrsg.: W. C. Pilgrim), VCH Weinheim, **1996**.
- [57] R. Wayne, *Principles and Applications of Photochemistry*, Oxford University Press, **1988**.
- [58] A. Hentrich, Dissertation, TU Berlin, **2005**.
- [59] H.-P. Merkle, *Diffusion*, in: *Grundlagen der Arzneiformenlehre-Galenik 2*, (Hrsg.: C.-D. Herzfeldt, J. Kreuter), Springer Verlag, Berlin, **1999**.
- [60] S. Steuer, Dissertation, Technischen Hochschule Aachen, **2003**.
- [61] C. Heidelberger, N. K. Chaudhuri, P. Danneberg, D. Mooren, L. Griesbach, Fluorinated Pyrimidines, A New Class of Tumour-Inhibitory Compounds, *Nature* **1957**, 179, 663–666.
- [62] E. Miller, The metabolism and pharmacology of 5-fluorouracil, *Journal of Surgical Oncology* **1971**, 3(3), 309–315.
- [63] D. B. Longley, D. P. Harkin, P. G. Johnston, 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies, *Nat Rev Cancer* **2003**, 3, 330–338.
- [64] T. Reinhard, M. Klüppel, R. Sundmacher, 5-Fluorouracil Injection After Filtering Surgery, *Klin Monatsbl Augenheilkd* **1993**, 203, 329–335.
- [65] R. Wormald, M. Wilkins, C. Bunce, Postoperative 5-Fluorouracil for glaucoma surgery., *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2001**, 3.

- [66] No authors listed, Five-year follow-up of the Fluorouracil Filtering Surgery Study. The Fluorouracil Filtering Surgery Study Group., *Am J Ophthalmol.* **1996**, 122, 751–752.
- [67] T. M. Rabsilber, G. U. Auffarth, Pharmakologische Ansätze zur Prävention der Cataracta secundaria, *Klin Monatsbl Augenheilkd* **2006**, 223, 559–567.
- [68] I. M. Mohamed, J. Alió, M. J. Ruiz, Prevention of Secondary Cataract by Antimitotic Drugs: Experimental Study, *Ophthalmic Res* **1996**, 28, 64–69.
- [69] V. Fernandez, M. Fragoso, C. Billotte, P. Lamar, M. Orozco, S. Dubovy, M. Willcox, J. Parel, Efficacy of various drugs in the prevention of posterior capsule opacification: experimental study of rabbit eyes, *J Cataract Refract Surg.* **2004**, 30(12), 2598–2605.
- [70] S. L. X. Su, J. Zheng, Inhibition of rabbit lens epithelial cell proliferation, *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* **1996**, 32, 339.
- [71] D. T. Pham, U. Kraffel, J. Wollensak, Surgical Polishing of Cataracta Secundaria and Its Complications, *Klin Monatsbl Augenheilkd* **1993**, 202(6), 507–510.
- [72] J. Liese, Diplomarbeit, Universität Marburg, **2008**.
- [73] N. Haberkorn, Diplomarbeit, Universität Marburg, **2007**.
- [74] M. Zorn, Diplomarbeit, Universität Marburg, **2007**.
- [75] P. J. Behrendt, Diplomarbeit, Universität Marburg, **2009**.
- [76] H. Bladt, Diplomarbeit, Universität Marburg, **2010**.
- [77] C. Sinkel, Dissertation, Universität Marburg, **2010**.
- [78] R. Hoffman, P. Wells, H. Morrison, Organic photochemistry XII further studies on the mechanism of coumarin photodimerization, *J. Org. Chem.* **1971**, 36, 102–108.
- [79] H. Morrison, H. Curtis, T. McDowell, Solvent effects on the photodimerization of coumarin, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 5415–5419.

- [80] F. Lewis, S. Barancyk, Photodimerization and cross-cycloaddition of coumarin, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8653–8661.
- [81] S. de Melo, R. Becker, A. Macanita, Photophysical behavior of coumarins as a function of substitution and solvent: experimental evidence for the existence of a lowest lying (n,phi\*)-state, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 6054–6058.
- [82] N. Yonezawa, M. Hasegawa, Synthesis of Lactone-opened Derivatives of anti and syn Head-to-Head Coumarin Dimers, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, *56*, 367–368.
- [83] N. Yonezawa, T. Yoshida, M. Hasegawa, Symmetric and Asymmetric Photocleavage of the Cyclobutane Rings in Head-to-head Coumarin Dimers and Their Lactone-opened Derivatives, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1983**, 1083–1086.
- [84] M. Hasegawa, H. Katsuki, N. Yonezawa, T. Yoshida, Y. Ikebe, Reaction of syn head-to-head Coumarin Dimer with Amines and Thermal Behavior of the Adducts, *Chemistry Letters* **1982**, *11*, 1325–1328.
- [85] J. Liese, N. A. Hampp, 1,1-Dimethylnaphthalenon-dimers as photocleavable linkers with improved two-photon-absorption efficiency and hydrolytic stability, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2010**, *209*, 128 – 134.
- [86] J. Carnduff, J. Iball, G. Leppard, J. N. Low, The Structure of the anti Head-to-head Photodimer of 1,1-Dimethyl-2(1H)-naphthalenone, *Chem. Comm.* **1969**, 1218–1219.
- [87] T. Mukai, T. Oine, H. Sukawa, Three Photodimers of 1,1-Dimethyl-2(1H)-naphthalenone, *Chem. Comm.* **1970**, 271–272.
- [88] F. Neese, ORCA - an ab initio, Density Functional and Semiempirical program package Version 2.6-35, University of Bonn, **2008**.
- [89] A. Schaefer, H. Horn, R. Ahlrichs, Fully optimized contracted Gaussian basis sets for atoms Li to Kr, *J. Chem. Phys.* **1992**, *97*, 2571.
- [90] J. Liese, N. A. Hampp, Synthesis and Photocleavage of new [2+2] hetero di-

- mers for ophthalmic drug delivery, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2011**, *accepted*.
- [91] Sigma Aldrich Inc., Product Sheet 5FU, online, **2011**.
- [92] R. W. Carr, W. D. Walters, The Thermal Decomposition of Cyclobutane, *J. Phys. Chem.* **1963**, *67*, 1370–1372.
- [93] H. Röttele, W. Martin, J. F. M. Oth, G. Schröder, Versuche zur Darstellung des [12]Annulens, *Chem. Ber.* **1969**, *102*, 3985–3995.
- [94] L. A. Paquette, M. J. Kukla, Pyrolysis of stereotopically twisted Cyclobutane Rings, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *15*, 1241–1244.
- [95] E. Schaumann, R. Ketcham, [2+2]-Cycloreversions, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 225–247.
- [96] T. Noh, S. Kang, M. Joo, H. Yu, Syn-[2+2] Cyclodimers of 2-Cyanonaphtalene and Benzene, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2000**, *21*, 459–460.
- [97] H. Gan, M. G. Horner, B. J. Hrnjez, T. A. McCormack, J. L. King, Z. Gasyna, G. Chen, R. Gleiter, N. C. Yang, Chemistry of syn-o,o-Dibenzene, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12098–12111.
- [98] T. Noh, H. Yu, Y. Jeong, K. Jeon, S. Kang, [2+2] Heterodimers of methyl phenanthrene-9-carboxylate and benzene, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, *21*, 1066–1071.
- [99] S. Pedersen, J. L. Herek, A. H. Zewail, The Validity of the Diradical Hypothesis: Direct Femtosecond Studies of the Transition-State Structures, *Science* **1994**, *266*, 1359–1364.
- [100] C. Doubleday, Tetramethylene Optimized by MRCI and by CASSCF with a multiply Polarized Basis Set., *J. Phys. Chem* **1996**, *100*, 15083–15086.
- [101] C. X. L. K. L. Z. Doering, W.v.E., Fate of the Intermediate Diradicals in the Caldera: Stereochemistry of Stereomutations, [2+2] Cycloreversions, and [2+4]

- Ring- Enlargements of cis- and trans-1-Cyano-2-(E and Z)-propenyl-cis-3,4- di-deuteriocyclobutanes, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 11642–11652.
- [102] D. M. Birney, J. A. Berson, Synthesis of the covalent benzene-carbon monoxide cycloadduct, norborna-2,5-dien-7-one: Correlation of kinetic and thermodynamic stabilities in cycloreversion reactions, *Tetrahedron* **1986**, 42(6), 1561 – 1570.
- [103] O. Wiest, Structure and [2+2] Cycloreversion of the Cyclobutane Radical Cation, *The Journal of Physical Chemistry A* **1999**, 103, 7907– 7911.
- [104] G. A. Segal, Organic transition states. III. Ab initio study of the pyrolysis of cyclobutane via the tetramethylene diradical, *Journal of the American Chemical Society* **1974**, 96, 7892– 7898.
- [105] L. N. William J. Bailey, Carl H. Cunov, Pyrolysis of Esters. IV. Thermal Cleavage of the Cyclobutane Ring, *Journal of the American Chemical Society* **1955**, 77, 2787– 2790.
- [106] K. F. W. W. D. Genaux, C. T., The Thermal Decomposition of Cyclobutane, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 75, 6196–6199.
- [107] W. Y. S. Y. Nishimura, J., Intramolecular [2+2] Photocycloaddition. 14. Cycloreversion of Cyclophanes Possessing a Cyclobutane Ring at their Tether, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 618–619.
- [108] H. Zehner, W. Flossmann, E. Westhof, A. Müller, Electron spin resonance of irradiated single crystals of uracil., *Molecular Physics* **1976**, 32, 869–878.
- [109] X.-M. Zhang, Radical Substituent Effects of alpha-Fluorine and alpha-Trifluoromethyl Groups, *The Journal of Organic Chemistry* **1998**, 63, 3590–3594.
- [110] J. Liese, N. A. Hampp, Thermal [2+2]-cycloreversion of a cyclobutane moiety via a biradical reaction, *JPC A* **2011**, *accepted*.
- [111] J. Rennert, S. Japar, M. Guttman, Photo-Dimerization and Photo-Reduction of alpha-Naphtoquinone in Different Solvent Media, *Photochemistry and Photobiology* **1967**, 6(7), 485–490.



- [112] J. Dekker, P. Janse van Vuuren, D. P. Venter, Photodimerization. I. The syn and anti Photodimers of 1,4-Naphthoquinone, *J.Org.Chem.* **1968**, 33, 464–466.
- [113] J. V. Ellis, J. E. Jones, Photolysis of 2-alkoxy-1,4-naphthoquinones, *The Journal of Organic Chemistry* **1975**, 40(4), 485–488.
- [114] R. B. Woodward, R. H. Eastman, The Dimerization of 6-Methoxy-3,4-dihydronaphthalene, *Journal of the American Chemical Society* **1944**, 66(5), 674–679.
- [115] J. Dekker, T. G. Dekker, Photodimerization Part III. The Photodimerization of 1,2-Dihydronaphthalene, *Joernaal van die suid-afrikaanse chemiese Instituut* **1973**, 26, 25–29.
- [116] T. K. Dobbs, D. V. Hertzler, G. W. Keen, E. J. Eisenbraun, R. Fink, M. B. Hos-sain, D. Van der Helm, Regioselective acid-catalyzed cyclodimerization of 1,2-dihydronaphthalene. Mechanism of formation and single-crystal x-ray analysis of two octahydrobenzo[j]fluoranthenes, *The Journal of Organic Chemistry* **1980**, 45(23), 4769–4774.
- [117] D. G. Amirsakis, A. M. Elizarov, M. A. Garcia-Garibay, P. T. Glink, J. F. Stoddart, A. J. P. White, D. J. Williams, Diastereospecific Photochemical Dimerization of a Stilbene-Containing Daisy Chain Monomer in Solution as well as in the Solid State, *Angewandte Chemie* **2003**, 115(10), 1158–1164.
- [118] A. Ruseckas, E. B. Namdas, J. Y. Lee, S. Mukamel, S. Wang, G. C. Bazan, V. Sundström, Conformations and Photophysics of a Stilbene Dimer, *J. Phys. Chem. A* **2003**, 107(40), 8029–8034.
- [119] W. M. Horspool, N. S. Allen, A. Cox, A. C. Pratt, I. Dunkin, A. T. Harriman, A. C. Pratt, A. Gilbert, W. M. Horspool, A. Harriman, A. Harriman, N. S. Allen, A. Cox, N. S. Allen, I. R. Dunkin, W. M. Horspool, A. Cox, W. M. Horspool, A. Cox, A. Cox, *Photochemistry*, Bd. 32, (Hrsg.: A. Gilbert), The Royal Society of Chemistry, **2001**.

- [120] H. I. Bernstein, W. C. Quimby, The Photochemical Dimerization of trans-Cinnamic Acid, *Journal of the American Chemical Society* **1943**, 65(10), 1845–1846.
- [121] M. D. Auria, A. Vantaggi, Photochemical dimerization of methoxy substituted cinnamic acid methyl esters, *Tetrahedron* **1992**, 48(12), 2523 – 2528.
- [122] G. Montaudo, S. Caccamese, Structure and conformation of chalcone photodimers and related compounds, *The Journal of Organic Chemistry* **1973**, 38(4), 710–716.
- [123] J. Träger, S. Härtner, J. Heinzer, H.-C. Kim, N. A. Hampp, Two-photon-induced cycloreversion reaction of chalcone photodimers, *Chemical Physics Letters* **2008**, 455, 307–310.
- [124] J. Netto-Ferreira, V. Wintgens, J. Scaiano, Lifetimes of biradicals produced in the Norrish type I reaction of methyl-substituted 2-tetralones, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **1991**, 57(1-3), 153 – 163, tetralone radikale.
- [125] S. Warren, J. Clayden, N. Greeves, P. Wothers, *Organic Chemistry*, IE-OXFORD-UK, **2001**.
- [126] A. Willmes, *Taschenbuch Chemische Substanzen: Elemente - Anorganika - Organika - Naturstoffe - Polymere*, Verlag Harri Deutsch, **2007**.
- [127] W. T. Wiesler, K. Nakanishi, Relative and Absolute Configurational Assignments of Acyclic Polyols by Circular Dichroism. 1. Rationale for a Simple Procedure Based on the Exciton Chirality Method, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 9205–9213.
- [128] R. N. Beale, E. M. F. Roe, Ultra-violet absorption spectra of trans- and cis-stilbenes and their derivatives. Part I. Trans- and cis-stilbenes, *J. Chem. Soc* **1953**, 2755–2763.
- [129] S. S. Marco Frigerio, Marco Santagostino, A User-Friendly Entry to 2-Iodoxybenzoic Acid (IBX), *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 4537–4538.
- [130] K. C. Nicolaou, Y.-L. Zhong, P. S. Baran, A New Method for the One-Step Syn-

thesis of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Carbonyl Systems from Saturated Alcohols and Carbonyl Compounds, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 7596–7597.

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all denen danken, die mich beim Erreichen meiner mir gestellten Ziele und insbesondere bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Norbert Hampp für die freundliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe und das interessante Forschungsthema, das er mir zur selbstständigen Bearbeitung überlassen hat. Weiterhin danke ich Herrn Prof. Hampp für die Bereitstellung seiner hervorragenden technischen Ausstattung bezüglich der Arbeitsmaterialien mit denen das Thema dieser Dissertation bearbeitet wurde.

Bei Herrn Prof. Dr. Marcus Motzkus bedanke ich mich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens und die großzügige Bereitstellung seines *Infinity*-Lasers für die TPA-Messungen.

Der gesamten AG Hampp und insbesondere der Actiol-Abteilung möchte ich für die schönen und aufregenden Zeiten danken.

Besonderen Dank möchte ich Nina Schromczyk (in dieser Arbeit endlich mal richtig geschrieben - ich lerne dazu!) für all die gemeinsamen Diskussionen über Fachliches und Ferneres in den unverzichtbaren Pausen aussprechen. Danke, dass du immer ein offenes Ohr für mich hast, denn wie wäre ich nur jetzt ohne dich.

Ebenso möchte ich Anne Busch danken, dass sie mir insbesondere in der letzten stressigen Phase dieser Arbeit beigestanden hat und mir fleißig Stressbekämpfungsmaßnahmen verschrieb. Und natürlich bedanke ich mich für das wiederholte Korrekturlesen meiner Arbeit. Sei mir ein würdiges Eichhörn...eine würdige Nachfolgerin.

Weiterhin möchte ich Jens Träger für die fachliche Unterstützung und meinem Kollegen Daniel Kehrlöser für die hilfreichen Diskussionen und das gemeinsame Bekämpfen des Chaos im Labor danken. Andreas Hedderich danke ich für seine zwei-

deutigen, Pierre Hillebrecht für seine sarkastischen und Hendrik Reinhardt für seine verrückten Humorbeiträge, die die Stimmung immer wieder hoben.

Frau Jutta Hennen danke ich sehr für die Erledigung allmöglicher anfallender Papierkrams, was einem das Leben deutlich erleichtert.

Den Mitarbeitern der Feinmechanik- und Elektronikwerkstatt danke ich für ihre Hilfe und präzisen Anfertigungen, Andreas Hedderich insbesondere für die Linsenhalterung und das Konstruktionsbild des Infinity-Lasersystems. Der Elektronikwerkstatt und insbesondere Herrn Werner Kröschel danke ich für die beharrliche und zuverlässige Besorgung der richtigen UV-Leuchtstoffröhren, auch wenn neue EU-Verordnungen die Auswahl beständig schrumpfen ließen.

Ich danke meinen vielen Freunden, die ich im Laufe des Studiums gefunden habe und mit denen ich viele schöne Momente erleben durfte, auch wenn viele sich nun nach dem Studium in alle Winde zerstreut haben. Im besonderen sind das Kerstin Donner und Thomas Ernst, Katharina Gries und Sebastian Dohm, Johanna Heine, Ellen Damm, Maik Veelders, Benedikt Sammet, Silke Pohl, Oliver Demny und Alexander Potzuweit.

Besonderer Dank gilt meinen musikalischen Mitstreitern unserer Band Herbstwind, die da wären Jasmin Kumler, Robin Sievers, Andreas Schneider und Fabian Wittenborn. Das gemeinsame Musizieren mit euch bedeutet mir sehr viel.

Meinen Eltern danke ich dafür, dass sie mich in meiner bisherigen wissenschaftlichen Karriere stets unterstützt und ermutigt haben und mich nun gut gerüstet ins „wirkliche“ Leben entlassen können.

Und nicht zuletzt möchte ich meinem Freund Jan Göschel danken, dass er mich stets ertragen hat, insbesondere in der stressigen letzten Phase dieser Arbeit, und einfach für mich da ist.

## 7 Anhang

## **Erklärung**

ich versichere, dass ich meine Dissertation mit dem Titel:

**„Photochemische Linkerstrukturen zur laserinduzierten Wirkstofffreisetzung aus polymeren Intraokularlinsen“**

selbstständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, den 23.03.2011